

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THALITA GILDA SANTOS

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *Manekia obtusa* E
Piper cubataonum (PIPERACEAE) E SÍNTESE DE ESTIGMAST-4-EN-3-ONA,
(S)-AEGELINA E (R)-6'-DESMETOXI AEGELINA.

CURITIBA

2014

THALITA GILDA SANTOS

**ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *Manekia obtusa* E
Piper cubataonum (PIPERACEAE) E SÍNTESE DE ESTIGMAST-4-EN-3-ONA,
(S)-AEGELINA E (R)-6'-DESMETOXI AEGELINA.**

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutor em Química
Orgânica, ao Programa de Pós-Graduação
em Química, do Setor de Ciências Exatas
da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Beatriz Helena Lameiro
de Noronha Sales Maia

CURITIBA

2014

S237e

Santos, Thalita Gilda

Estudo químico e biológico das espécies *Manekia obtusa* e *Piper cubataonum* (Piperaceae) e síntese de estigmast-4-en-3-ona, (S)-aegelina e (R)-6'-desmetoxi aegelina / Thalita Gilda Santos. – Curitiba, 2014.
202f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas,
Programa Interdisciplinar de Pós-graduação em Química, 2014.

Orientador: Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia .
Bibliografia: p. 142-163.

1. Pimenta. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Química vegetal. I.
Universidade Federal do Paraná. II. Maia, Beatriz Helena Lameiro de Noronha
Sales. III. Título.

CDD: 583.25

TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *MANEKIA OBTUSA* E *PIPER CUBATAONUM* (PIPERACEAE) E SÍNTESE DE ESTIGMAST-4-EN-3-ONA, (S)-AEGELINA E (R)-6'-DESMETÓXI AEGELINA

por

THALITA GILDA SANTOS

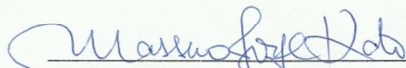
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



Prof^ª Dr^a Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia
Orientadora
Dep. de Química – UFPR



Prof^ª Dr^a Maria Auxiliadora Coelho Kaplan
Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais - UFRJ



Prof. Dr. Massuo Jorge Kato
Instituto de Química - USP



Prof^ª Dr^a Ana Luisa Lacava Lordello
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Francisco de Assis Marques
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 18 de fevereiro de 2014.

Dedico este trabalho a meus pais Dalvo Santos e Lia Gilda Virtuoso Santos, que dedicaram suas vidas para minha formação pessoal e profissional, nunca medindo esforços para que os meus sonhos se tornassem realidade.

AGRADECIMENTOS

- *A Deus pela vida e por iluminar todos os caminhos trilhados na minha jornada.*
- *Aos meus pais: Lia Gilda Virtuoso Santos e Dalvo Santos, pelo amor incondicional, incentivo, compreensão e auxílio na busca da realização deste sonho.*
- *Às minhas irmãs: Christiane Luiza Santos e Paloma Maria Santos e ao meu sobrinho Vitor Santos Turra por estarem presentes, incentivando e vivenciando esta, e todas as etapas de minha vida.*
- *Ao meu noivo Renan André Cicatto Benghi, pelo companheirismo, paciência e estímulo.*
- *A professora Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos, pelas oportunidades, paciência, amizade e por toda confiança depositada em mim para a realização deste trabalho.*
- *Ao professor Dr. Massuo Jorge Kato da Universidade de São Paulo, pela coleta do material vegetal, bem como auxílio em todas as etapas deste trabalho.*
- *A Dra. Lydia Fumiko Yamaguchi da Universidade de São Paulo, pelo auxílio nas análises de CLAE-EM e $[\alpha]_D$, e toda assistência nesta pesquisa.*
- *Aos professores Dr. Lee Dyer e Dr. Christopher Jeffrey pela oportunidade de estagiar em seus respectivos laboratórios na Universidade de Nevada, Reno, bem como toda a atenção e receptividade que tiveram comigo.*
- *A Dra. Lora Richards e Devendar Anumandla, pela assistência na realização dos bioensaios e síntese, respectivamente, bem como todos os demais alunos dos laboratórios de Biologia e Química da UNR.*
- *Ao professor Dr. Fabio Augusto e a Msc. Karina Fukuda do Laboratório de Cromatografia Gasosa da UNICAMP, pela ajuda na realização das análises de CGxCG.*
- *Aos professores: Dra. Ana Luísa Lacava Lordello, Dr. Francisco de Assis Marques e Dr. Brás Heleno de Oliveira, pela disponibilidade e por todas as contribuições neste trabalho, realizadas através das frequentes avaliações, visando sempre à melhoria do mesmo.*

- Aos professores membros externos da banca, Dra. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, Dr. Massuo Jorge Kato e Dra. Sirlei Dias Teixeira pela disponibilidade em contribuir e avaliar este trabalho.
- Ao Dr. Adilson Sartoratto do Centro de Pesquisa Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas, e Agrícolas – UNICAMP pela realização das análises CG-EM.
- A Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte e Dr. João Ernesto de Carvalho do Centro de Pesquisa Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas, e Agrícolas – UNICAMP pela realização dos ensaios antimicrobianos e citotóxicos, respectivamente.
- Aos meus amigos verdadeiros de longa data, que sempre acreditaram nos meus sonhos, em especial a Janete Hansen, Dilamara Riva, Débora Zim, Gabriela Queiroz, Vanderléia Marini, Rafael Serafini, Mara C. Dalmolin, Larissa da Silva e Eduarda Amorim.
- Aos amigos do laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química e do Departamento de Química, em especial a Marineli Gelinsk, Edione F. Canzi, Maria Helena Verdan, Regiane L. B. Strapasson, Carolina S. Kovalski, Leopoldo Baratto, Keylla L. Mischiatti, Karina B. de Oliveira, Anderson R. dos Santos, Angelita Nepel, Kahlil S. Salomé, Inaiara Casapula, Renata Olegário, Cassiano Pires e Nelissa P. Vaz.
- A todos os professores que auxiliaram no aumento do meu conhecimento e que me fizeram crescer como pessoa e pesquisadora.
- A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado, bem como a bolsa de doutorado sanduiche, através do Programa Ciência sem fronteiras.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, pela infraestrutura e oportunidade para a realização desta pesquisa.
- A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, o meu MUITO OBRIGADA!

“Se podemos sonhar, também podemos tornar nossos sonhos realidade.”

Walt Disney

RESUMO

No presente trabalho foi determinada a composição química do óleo essencial das partes aéreas de *Manekia obtusa* e das folhas e galhos de *Piper cubataonum*, através de CG-EM e CG×CG. A análise por CG-EM revelou para o óleo essencial de *M. obtusa* 22 constituintes, sendo majoritariamente formado por sesquiterpenos oxigenados. Para o óleo essencial das folhas e galhos de *P. cubataonum*, foi possível identificar 14 e 20 constituintes, respectivamente, sendo que ambos os óleos apresentam os alilfenóis, dilapiol e apiol, como majoritários. Através da análise por CG×CG, foi possível caracterizar 128 constituintes diferentes dos três óleos essenciais analisados, sendo 80 constituintes nas partes aéreas de *M. obtusa*, 57 e 66 constituintes nas folhas e galhos de *P. cubataonum*, respectivamente. Realizou-se o estudo fitoquímico do extrato diclorometânico das partes aéreas de *M. obtusa*, resultando no isolamento de cinco substâncias: duas amidas, aegolina (**MO 1**) e cinamamida (**MO 2**), uma mistura dos esteroides β -sitosterol e estigmasterol (**MO 3A e MO 3B**) e o esteroide estigmast-4-en-3-ona (**MO 4**). O estudo fitoquímico do extrato metanólico das raízes de *P. cubataonum* resultou no isolamento de onze substâncias, sendo quatro alilfenóis: miristicina (**PCR 1**), apiol (**PCR 2**), dilapiol (**PCR 3**) e elemicina (**PCR 4**); duas lignanas: *rel*-(7*R*,8*S*,7'*S*,8'*S*)-4',5'-metilenodioxi-3,4,5,3'-tetrametoxi-7,7'-epoxilignana (**PCR 5**) e epigrandisina (**PCR 6**); duas aristolactamas: cefaranona B (**PCR 7**) e piperolactama A (**PCR 8**); e três esteroides já isolados anteriormente de *M. obtusa*, sendo uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol (**MO 3A e MO 3B**) e o estigmast-4-en-3-ona (**MO 4**). As atividades antimicrobianas e citotoxicidade foram avaliadas para os extratos e óleos essenciais, onde se destaca a forte atividade antimicrobiana do extrato diclorometânico e do óleo essencial de *M. obtusa* contra *Candida albicans*, sendo superiores ao medicamento de referência (nistatina) utilizado. Para o estudo da atividade inseticida, realizado na Universidade de Nevada, foram sintetizados os constituintes isolados de *M. obtusa*, não disponíveis comercialmente, neste caso, a estigmast-4-en-3-ona (**MO 4**) e a amida (S)-aegolina (**MO 1**), sendo esta última sintetizada por duas rotas diferentes. Além disso, realizou-se a síntese da (R)-6'-desmetoxi aegolina (análogo da aegolina). Os três constituintes sintetizados, juntamente com os demais isolados de *M. obtusa* (adquiridos comercialmente) foram submetidos a ensaios de atividade inseticidas frente à *Spodoptera exigua*, individualmente ou em misturas. O esteroide **MO 4**, a mistura das amidas e a mistura total diminuíram a taxa de sobrevivência de *S. exigua*. A amida **MO2** e a mistura das amidas reduziram a massa da pupa e retardaram o desenvolvimento larval.

PALAVRAS-CHAVES: *Piper cubataonum*; *Manekia obtusa*; óleo essencial; fitoquímica; lignanas; aristolactamas; amidas; inseticida; síntese.

ABSTRACT

In this study, the chemical composition of the essential oil from the aerial parts of *Manekia obtusa* and the leaves and branches of *Piper cubataonum* were analyzed by GC-MS and GCxGC, separately. The *M. obtusa* essential oil revealed 22 constituents by GC-MS, which were mainly composed by oxygenated sesquiterpenes. Essential oil from leaves and branches of *P. cubataonum*, showed 14 and 20 identified constituents, respectively and both oils presented the allylphenols, dillapiole and apiole, as main constituents. The GCxGC analysis characterized 128 different constituents of the three essential oils, of which 80 were constituents for *M. obtusa* aerial parts, 57 and 66 constituents for *P. cubataonum* leaves and branches, respectively. The phytochemical study of the dichloromethane extract from *M. obtusa* yielded five substances: two amides, aegeline (**MO 1**) and cinnamamide (**MO 2**), a mixture of steroids β -sitosterol and stigmasterol (**MO 3A** and **MO 3B**) and the steroid stigmast-4-en-3-one (**MO 4**). From methanol extract of the roots of *Piper cubataonum*, eleven substances were isolated, including four allylphenols: myristicin (**PCR 1**), apiole (**PCR 2**), dillapiole (**PCR 3**) and elemicin (**PCR 4**); two lignans: *rel*-(7*R*,8*S*,7'*S*,8'*S*)-4',5'-methylenedioxy-3,4,5,3'-tetramethoxy-7,7'-epoxylignan (**PCR 5**) and epigrandisin (**PCR 6**); two aristolactams: cepharanone B (**PCR 7**) and piperolactam A (**PCR 8**) and three steroids previously isolated from *M. obtusa*: the mixture of β -sitosterol and stigmasterol (**MO 3A** and **MO 3B**) and stigmast-4-en-3-one (**MO 4**). The antimicrobial and citotoxic activities were evaluated for the extracts and essential oils. The dichloromethane extract and essential oil of *M. obtusa* revealed stronger antimicrobial activity against *Candida albicans* than the reference drug used. For the insecticidal activity, performed at the University of Nevada, the isolated constituents of *M. obtusa*, (which are not commercially available) were synthesized, in this case, stigmast-4-en-3-one (**MO 4**) and the amide (*S*)-aegeline (**MO 1**), the later was synthesized by two different routes. In addition, the synthesis of (*R*)-6'-demethoxy aegeline (aegeline analog - **NMO 1**) was performed. The three synthesized constituents along with other isolates of *M. obtusa* (commercially available) were subjected, individually or in mixtures, to insecticides bioassays against *Spodoptera exigua*. The **MO 4** steroid, the amide mixtures and the total mixture decreased survival rate of *S. exigua*. The amide **MO 2** and the amide mixtures reduced pupal mass and increased the period of larval development.

KEY-WORDS: *Piper cubataonum*; *Manekia obtusa*; essential oil; phytochemistry; lignans; aristolactams; amides; insecticide; synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécie <i>Manekia obtusa</i> .	22
Figura 2. Estrutura química de aegolina (1).	23
Figura 3. Constituintes isolados de <i>M. obtusa</i> , 7,4'-dimetilapigenina (2), 2',6'-diidroxí-4'-metoxichalcona (3) e 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (4).	24
Figura 4. Espécie <i>Piper cubataonum</i> .	25
Figura 5. Constituintes químicos isolados do gênero <i>Piper</i> (5-12).	26
Figura 6. Representação do aumento da capacidade do pico: (A) CG monodimensional; (B) CG-CG e (C) CG×CG .	29
Figura 7. Construção de diagrama tridimensional.	31
Figura 8. Proposta biossintética para aegolina.	33
Figura 9. Proposta biossintética para aristolactamas.	39
Figura 10. Proposta biossintéticas de lignanas.	45
Figura 11. Diferentes esqueletos apresentados por lignanas (13-20).	46
Figura 12. Alguns constituintes encontrados nas espécies de <i>Piper</i> que apresentam atividade antimicrobiana (21-27).	53
Figura 13. Algumas substâncias encontradas nas espécies de <i>Piper</i> que apresentam toxicidade ou atividade antitumoral (28-32).	55
Figura 14. Algumas amidas encontradas nas espécies de <i>Piper</i> que apresentam atividade inseticida (33-40).	57
Figura 15. Estrutura química de DEET.	58
Figura 16. (A) <i>Manekia obtusa</i> e (B) <i>Piper cubataonum</i> .	64
Figura 17. Cromatograma do óleo essencial das partes aéreas de <i>M. obtusa</i> obtido por CG-EM.	83
Figura 18. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>P. cubataonum</i> obtido por CG-EM.	84
Figura 19. Cromatograma 2D dos constituintes identificados de <i>M. obtusa</i> .	85
Figura 20. Cromatograma CG×CG das: (A) Folhas de <i>Piper cubataonum</i> e (B) Partes aéreas de <i>Manekia obtusa</i> . Ressaltando os principais grupos: (A) Hidrocarbonetos monoterpênicos, (B) Monoterpenos oxigenados, (C) Hidrocarbonetos sesquiterpênicos, (D) Sesquiterpenos oxigenados, (E) Fenilpropanoides e (F) Outros.	87
Figura 21. Sobreposição do espatulenol na análise 1D e separação em seis sinais na análise por CG×CG, do óleo essencial de <i>M. obtusa</i> .	88
Figura 22. Estrutura química de MO 1 - aegolina.	89
Figura 23. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância para MO 1.	91

Figura 24. Estrutura química de MO 2 – cinamamida.	91
Figura 25. Estrutura química de MO 3A – β -sitosterol e MO 3B – estigmasterol.....	93
Figura 26. Estrutura química de MO4 – estigmast-4-en-3-ona.....	95
Figura 27. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância para MO 4.....	97
Figura 28. Estrutura química de PCR 1 – miristicina.....	97
Figura 29. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOE 1D (azul) para PCR 1	99
Figura 30. Estrutura química de PCR 2 - apiol e PCR 3 - dilapiol.....	100
Figura 31. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOE 1D (azul) para PCR 2 e PCR 3.	102
Figura 32. Estrutura química de PCR 4 - elemicina.....	103
Figura 33. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância para PCR 4.	104
Figura 34. Estrutura química de PCR 5.....	105
Figura 35. Possibilidades de diastereoisômeros de 7,7'-epoxilignanas (41-48).....	107
Figura 36. Principais correlações observadas no experimento de NOESY para PCR 5	107
Figura 37. Estrutura química de PCR 6 - epigrandisina.	108
Figura 38. Estrutura química de PCR 7 – cefaranona B.....	110
Figura 39. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOESY (azul) para PCR 7.	112
Figura 40. Estrutura química de PCR 8 – piperolactama A.	113
Figura 41. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOESY (azul) para PCR 8.	114
Figura 42. Estrutura química dos ligantes quirais derivados de ftalazina. (A) (DHQD) $_2$ PHAL e (B) (DHQ) $_2$ PHAL.....	122
Figura 43. Possibilidades de ligação dos derivados de ftalazina determinando a enantiosseletividade do produto.	123
Figura 44. Modelo de aproximação da olefina com o ósmio ligado ao ligante quiral.	123
Figura 45. Etapas do mecanismo da reação de Noyori.....	132
Figura 46. Ligação do complexo a cetona pró-quiral.....	133
Figura 47. Efeito dos constituintes na média de sobrevivência de <i>S. exigua</i>	135
Figura 48. Efeito comparativo de NMO1 (preto) e MO1 (vermelho) na média de sobrevivência de <i>S. exigua</i>	136
Figura 49. Efeito dos constituintes na massa da pupa de <i>S. exigua</i>	137
Figura 50. Efeito dos constituintes no tempo de desenvolvimento de <i>S. exigua</i>	138

Figura 51. Efeito dos constituintes no tempo de desenvolvimento total de *S. exigua*.139

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Purificação das partes aéreas de <i>Manekia obtusa</i> .	67
Esquema 2. Purificação das raízes de <i>Piper cubataonum</i> .	68
Esquema 3. Purificação das raízes de <i>Piper cubataonum</i> (continuação).	69
Esquema 4. Esquema da síntese de estigmast-4-en-3-ona.	72
Esquema 5. Esquema da síntese de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegelina.	73
Esquema 6. Esquema da reação de diidroxilação assimétrica de Sharpless.	74
Esquema 7. Esquema da reação de tosilação.	75
Esquema 8. Esquema da síntese do produto azida.	76
Esquema 9. Esquema da redução da azida para amina primária.	77
Esquema 10. Esquema da etapa final da síntese de (<i>S</i>)-aegelina.	77
Esquema 11. Esquema da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.	79
Esquema 12. Esquema da reação de Noyori.	79
Esquema 13. Esquema da síntese de estigmast-4-en-3-ona.	118
Esquema 14. Proposta de mecanismo de reação de formação de estigmast-4-en-3-ona via reação de Oppenauer.	119
Esquema 15. Esquema da síntese de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegelina.	120
Esquema 16. Esquema da reação de diidroxilação assimétrica de Sharpless.	122
Esquema 17. Proposta de mecanismo de reação de diidroxilação assimétrica de Sharpless.	124
Esquema 18. Esquema da reação de tosilação.	124
Esquema 19. Proposta de mecanismo de reação de tosilação.	125
Esquema 20. Esquema da síntese do produto azida.	126
Esquema 21. Proposta de mecanismo de substituição nucleofílica através de azida.	126
Esquema 22. Esquema da redução da azida para amina primária.	127
Esquema 23. Esquema da etapa final da síntese de (<i>S</i>)-aegelina.	128
Esquema 24. Esquema da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.	129
Esquema 25. Proposta de mecanismo de α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.	130
Esquema 26. Esquema da reação de Noyori.	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de <i>Piper</i> e <i>Manekia</i> .	34
Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero <i>Piper</i> .	40
Tabela 3. Lignanas tetraidrofurânicas encontradas em <i>Piper</i> .	47
Tabela 4. Rendimento dos extratos das espécies <i>Manekia obtusa</i> e <i>Piper cubataonum</i> .	66
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância MO 1.	89
Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C para a substância MO 2.	92
Tabela 7. Dados de RMN de ^{13}C para as substâncias MO 3A e MO 3B.	93
Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância MO 4.	95
Tabela 9. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOE para a substância PCR 1.	98
Tabela 10. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), mapa de contorno ^1H x ^1H NOESY e NOE para as substâncias PCR 2 (cinza) e PCR 3 (branco).	100
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância PCR 4.	103
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 5.	105
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 6.	108
Tabela 14. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 7.	110
Tabela 15. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 8.	113
Tabela 16. Atividade antimicrobiana para os extratos, óleos essenciais de <i>M. obtusa</i> e <i>P. cubataonum</i> e de aegelina.	116
Tabela 17. Atividade citotóxica para os extratos, óleos essenciais de <i>M. obtusa</i> , <i>P. cubataonum</i> e da aegelina.	117
Tabela 18. Constituintes, índice de retenção e concentrações relativas por CGxCG-EM e CG-EM, para partes aéreas de <i>Manekia obtusa</i> , folhas e galhos de <i>Piper cubataonum</i> .	164

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.....	171
Espectro 2. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1 com ampliação.	171
Espectro 3. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.	172
Espectro 4. Mapa de correlação direta ^1H – ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.	172
Espectro 5. Mapa de correlação ^1H – ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.	173
Espectro 6. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 2.	173
Espectro 7. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de MO 2.	174
Espectro 8. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 2 sem adição de D_2O (preto) e com adição de D_2O (azul).	174
Espectro 9. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 3A e MO 3B.	175
Espectro 10. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de MO 3A e MO 3B.	175
Espectro 11. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 4.	176
Espectro 12. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de MO 4.	176
Espectro 13. Mapa de correlação direta ^1H – ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de MO 4.	177
Espectro 14. Mapa de correlação ^1H – ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de MO 4.	177
Espectro 15. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.	178
Espectro 16. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de PCR 1.	178
Espectro 17. Mapa de correlação direta ^1H – ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.	179
Espectro 18. Mapa de correlação ^1H – ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.	179
Espectro 19. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.	180
Espectro 20. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3 com ampliação.	180
Espectro 21. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.	181
Espectro 22. Mapa de correlação direta ^1H – ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.	181
Espectro 23. Mapa de correlação ^1H – ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.	182
Espectro 24. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.	182

Espectro 25. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.	183
Espectro 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 4.	183
Espectro 27. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de PCR 4.	184
Espectro 28. Mapa de correlação direta $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 4.	184
Espectro 29. Mapa de correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 4.	185
Espectro 30. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.	185
Espectro 31. Mapa de correlação direta $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.	186
Espectro 32. Mapa de correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.	186
Espectro 33. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.	187
Espectro 34. Ampliação do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.	187
Espectro 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.	188
Espectro 36. Mapa de correlação direta $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.	188
Espectro 37. Mapa de correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.	189
Espectro 38. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.	189
Espectro 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.	190
Espectro 40. Mapa de correlação direta $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.	190
Espectro 41. Mapa de correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.	191
Espectro 42. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.	191
Espectro 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.	192
Espectro 44. Mapa de correlação direta $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.	192
Espectro 45. Mapa de correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.	193
Espectro 46. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.	193
Espectro 47. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de estigmast-4-en-3-ona.	194
Espectro 48. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de estigmast-4-en-3-ona.	194
Espectro 49. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$) de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegolina.	195

Espectro 50. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + MeOD) de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegeline.	195
Espectro 51. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) do produto diidroxilado.	196
Espectro 52. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) do produto diidroxilado.	196
Espectro 53. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto tosilado.	197
Espectro 54. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto tosilado.	197
Espectro 55. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto azida.	198
Espectro 56. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto azida.	198
Espectro 57. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) do produto amina.	199
Espectro 58. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) do produto amina.	199
Espectro 59. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + MeOD) do produto (<i>S</i>)-aegeline.	200
Espectro 60. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + MeOD) do produto (<i>S</i>)-aegeline.	200
Espectro 61. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.	201
Espectro 62. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.	201
Espectro 63. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto tosilado da segunda rota.	202
Espectro 64. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto tosilado da segunda rota.	202

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C	-	Graus Celsius
AcOEt	-	Acetato de etila
ATCC	-	American Type Collection Culture
ATR	-	Attenuated Total internal Reflection
CC	-	Coluna cromatográfica
CCDA	-	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	-	Cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl ₃	-	Clorofórmio deuterado
CG-EM	-	Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CHCl ₃	-	Clorofórmio
CIM	-	Concentração Inibitória Mínima
d	-	Dupleto
Da	-	Unidade de massa atômica (Dalton)
DCM	-	Diclorometano
DMF	-	Dimetilformamida
DMSO	-	Dimetilsulfóxido
EP	-	Éter de Petróleo
eV	-	Elétron volt
FTIR	-	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
g	-	Grama
CG-CG	-	Cromatografia em fase Gasosa de Frações Parciais
CG×CG	-	Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente
h	-	Hora
HMBC	-	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	-	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	-	Hertz
<i>J</i>	-	Constante de Acoplamento
L	-	Litro
m	-	Multiplete
MeOD	-	Metanol deuterado
MeOH	-	Metanol
mg	-	Miligrama
MHz	-	MegaHertz
mg	-	Miligrama

mL	-	Mililitro
NIST	-	National Institute of Advanced Science and Technology
nm	-	Nanômetro
NOE	-	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	-	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
q	-	Quarteto
RMN	-	Ressonância magnética nuclear
RMN de ^{13}C	-	Ressonância magnética nuclear de Carbono 13
RMN de ^1H	-	Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio 1
s	-	Simpleto
t	-	Tripleto
TCA	-	Ácido tricloroacético
TCC	-	Tropical Culture Collection
TGI	-	“Total Growth Inhibition”
TMS	-	Tetrametilsilano
t_R	-	Tempo de retenção
TsCl	-	Cloreto de 4-toluenossulfonila / Cloreto de toсила
δ	-	Deslocamento químico
$^{LD}J_{H-C}$	-	Correlação a longa distância H-C
$^1J_{H-C}$	-	Correlação direta H-C
μg	-	Micrograma
μL	-	Microlitro
λ	-	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 PIPERACEAE	21
1.2 O GÊNERO <i>Manekia</i>	22
1.3 O GÊNERO <i>Piper</i>	24
1.4 CONSTITUINTES ISOLADOS DAS ESPÉCIES	26
1.4.1 Óleos essenciais	27
1.4.2 Identificação de óleos essenciais por cromatografia em fase gasosa	27
1.4.3 Amidas - piperamidas	32
1.4.4 Aristolactamas	38
1.4.5 Lignanas	44
1.5 PRODUTOS NATURAIS COM ATIVIDADE BIOLÓGICA	51
1.5.1 Atividade antimicrobiana	51
1.5.2 Toxicidade ou atividade antitumoral	54
1.5.3 Atividade inseticida	55
2 OBJETIVOS	60
2.1 GERAL	60
2.2 ESPECÍFICOS	60
3 PARTE EXPERIMENTAL	61
3.1 SUPORTES PARA CROMATOGRAFIA E REAGENTES	61
3.2 EQUIPAMENTOS	62
3.3 ESTUDO FITOQUÍMICO	63
3.3.1 Coleta e identificação botânica	63
3.3.2 Extração e identificação dos constituintes do óleo essencial de <i>M. obtusa</i> e <i>P. cubataonum</i>	64
3.3.3 Obtenção dos extratos	65
3.3.4 Fracionamento do extrato diclorometânico das partes aéreas de <i>Manekia obtusa</i>	66
3.3.5 Fracionamento do extrato metanólico das raízes de <i>Piper cubataonum</i>	66
3.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	70
3.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA	71
3.6 METODOLOGIA DE SÍNTESE	72
3.6.1 Síntese de estigmast-4-en-3-ona	72
3.6.2 Síntese de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegeline	73
3.6.3 Síntese da (<i>S</i>)-aegeline	74
3.7 METODOLOGIA DO ENSAIO INSETICIDA	81
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82

4.1. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL de <i>Manekia obtusa</i> E <i>Piper cubataonum</i>	82
4.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS	89
4.2.1 Determinação estrutural das amidas.....	89
4.2.2 Determinação estrutural dos esteroides.....	93
4.2.3 Determinação estrutural dos alilfenóis	97
4.2.4 Determinação estrutural das lignanas	105
4.2.5 Determinação estrutural das aristolactamas	110
4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	114
4.4. ATIVIDADE CITOTÓXICA	117
4.5 SINTESE DE PRODUTOS NATURAIS.....	118
4.5.1 Síntese de estigmast-4-en-3-ona	118
4.5.2 Síntese de (<i>R</i>)-6'-desmetoxi aegelina	120
4.5.3 Síntese de (<i>S</i>)-aegelina	121
4.6 ATIVIDADE INSETICIDA	134
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	141
REFERÊNCIAS	142
ANEXO 1 - RESULTADOS	164

1 INTRODUÇÃO

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais constituem modelos para a síntese de um grande número de fármacos (SIMÕES *et al.*, 2003). A pesquisa com plantas medicinais tem sido, e continua a ser considerada, uma abordagem frutífera para a procura de novos fármacos. A maior parte da Flora é quimicamente desconhecida e o estudo sobre o uso medicinal associado às plantas, auxilia nesta busca por compostos bioativos (MESQUITA *et al.*, 2005).

Certamente, a terapêutica moderna, composta por um grande número de medicamentos com ações específicas, não teria atingido o grau de desenvolvimento atual se não fosse o auxílio dos produtos naturais, notadamente aqueles derivados de plantas superiores. São inúmeros os exemplos de medicamentos que foram desenvolvidos, direta ou indiretamente, de fontes naturais, especialmente de plantas, incluindo entre outros a morfina, a pilocarpina, os digitálicos, a quinina, a artemisinina, a atropina e a escopolamina. Além disso, vários medicamentos de origem natural são usados no tratamento do câncer (vimblastina, vincristina, taxol, camptotecinas) e no tratamento de dislipidemias como as estatinas (CALIXTO, 2001). Na área dos medicamentos anti-infecciosos (antibacterianos, antifúngicos, antiparasitários e antivirais) perto de 70% são derivados ou inspirados a partir da natureza (CRAGG; NEWMAN, 2007).

Apesar do aumento de estudos nesta área, os dados disponíveis revelam que apenas 5-15% das cerca de 250.000 espécies de plantas superiores foram sistematicamente, quimicamente e farmacologicamente investigadas (SIMÕES *et al.*, 2003; CRAGG; NEWMAN, 2007).

1.1 PIPERACEAE

As Piperaceas são conhecidas desde o início do conhecimento da taxonomia botânica. Linnaeus (1753) descreve *Piper nigrum* L. como a primeira espécie para o gênero *Piper*, e mais 17 outras espécies (MEDEIROS, 2006).

A Família Piperaceae, segundo Cronquist (1988), pertence à subclasse Magnoliidae e está posicionada na ordem Piperales (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004; GUIMARÃES; MONTEIRO, 2006). De acordo com Schubert *et al.* (2012), Piperaceae compreende cinco gêneros, os gêneros *Peperomia* Ruiz & Pavon, *Piper*, *Manekia* Trelease, *Zippelia* Blume e *Verhuellia* Miquel.

Piperaceae é uma família que abrange a zona tropical e subtropical, ocorrendo em ambos os hemisférios. A família inclui cerca de 2.400 a 3.600 espécies. O Brasil possui uma alta diversidade de Piperaceae, com mais de 500 espécies concentradas

principalmente nas florestas Amazônica e Atlântica, distribuídas nos gêneros *Piper*, *Peperomia* e *Manekia* (JARAMILLO; MANOS; ZIMMER, 2004; MONTEIRO; GUIMARÃES, 2008).

A utilização comercial das Piperaceas é ainda muito restrita, algumas espécies, entretanto, são valorizadas comercialmente há muito tempo, como *Piper nigrum*, a pimenta do reino, cujos frutos de sabor picante, são utilizados como condimento, onde seus frutos maduros produzem a pimenta branca, enquanto os frutos verdes produzem a pimenta preta (JOLY, 1984). Outra espécie de *Piper* bastante reconhecida é *Piper methysticum*, kava-kava, a qual produz o fitoterápico indicado como sedativo (BARBOSA; LENARDON; PARTATA, 2013).

1.2 O GÊNERO *Manekia*

O gênero *Manekia* (antigo gênero *Sarcorrhachis*) apresenta cerca de 8 espécies, distribuídas no Haiti, nas Pequenas Antilhas, sul da Nicarágua, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Venezuela, Equador, norte do Peru e Brasil (Floresta Atlântica), ocorrendo do nível do mar até 2000 m de altitude (GUIMARÃES; ICHASO; COSTA, 1978; ARIAS *et al.*, 2006; WANKE *et al.*, 2007).

Manekia obtusa Miq (Figura 1) é popularmente conhecida como pimenta-do-mato, ocorrendo no Brasil nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Paraná (GUIMARÃES; ICHASO; COSTA, 1978; CERVI; HATSCHBACH; VON LINSINGEN, 2007; MONTEIRO; GUIMARÃES, 2008). Esta espécie caracteriza-se pelo hábito escandente, inflorescências axilares e terminais, lâmina ovada e nervação campilódroma. Com bráctea peduncular e o conectivo expandido dos estames, florescendo e frutificando de dezembro a abril (MONTEIRO; GUIMARÃES, 2009).

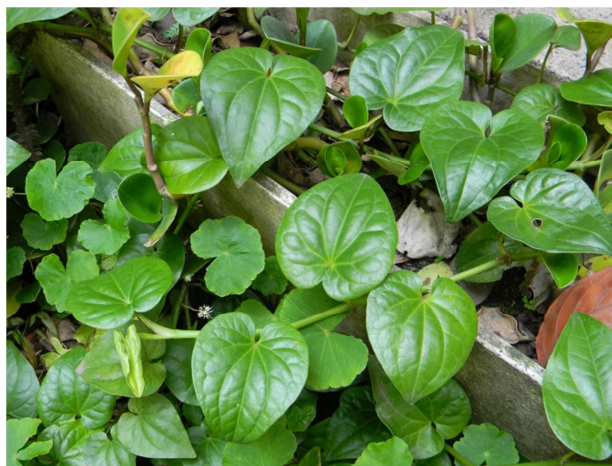


Figura 1. Espécie *Manekia obtusa*.

O gênero *Manekia* apresenta poucos estudos químicos e biológicos. Os estudos que envolvem este gênero geralmente são botânicos (JARAMILLO; MANOS; ZIMMER, 2004; ARIAS; WILLIAMS, 2008). No que diz respeito aos estudos químicos e biológicos de *Manekia*, no trabalho de Williams *et al.* (2003), a fração hexânica do extrato bruto metanólico de *Manekia naranjoana* demonstrou atividade antileishmaníase ($IC_{50} = 5 \mu g mL^{-1}$), esta fração foi purificada resultando no isolamento da aegelina (**1**) (Figura 2), cujas propriedades antileishmaníases ainda não haviam sido descritas ($IC_{50} = 3,5 \mu g mL^{-1}$).

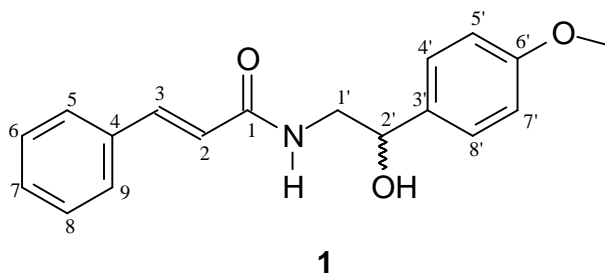


Figura 2. Estrutura química de aegelina (1).

Benitez e Stashenko (2009) estudaram a atividade antibacteriana de *Manekia sidowii* que foi ativa contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. Além disso, Chaverri; Diaz; Cicció (2011) estudaram o óleo essencial de *M. naranjoana*, o qual revelou uma composição química constituída majoritariamente por hidrocarbonetos monoterpênicos. No estudo de Marques *et al.* (2003), o óleo essencial das folhas apresentou como constituintes majoritários δ -3-careno (57%), α -pineno (6,3%) e safrol (4,0%) e para os galhos δ -3-careno (41%), seguido de safrol (8,3%) e β -elemeno (7,2%).

No estudo fitoquímico de *Manekia obtusa*, realizado por nosso grupo de pesquisa, no trabalho de Fernandes (2006) foram isolados a amida aegelina (**1**) (Figura 2) e os esteroides β -sitosterol e estigmasterol. Souza (2011) também realizou o estudo fitoquímico de *M. obtusa*, o qual o extrato hexânico das folhas forneceu: mistura dos hidrocarbonetos hexadecano, heptadecano, octadecano, nonadecano, nonacosano; os ésteres octadecanoato de etila, hexadecanoato de metila e palmitato de etila; os sesquiterpenos copaeno, aromadendreno, α -curcumeno, eudesma-4(14),11-dieno, α -selineno, γ -cariofileno, cadineno, α -cadinol, óxido de aromadendreno, longipinocarvona, epóxido de isoaromadendreno; o diterpeno fitol; e os esteroides: campesterol, estigmasterol e β -sitosterol. Além disso, isolou-se a flavona 7,4'-dimetilapigenina (**2**) e a mistura dos flavonoides 2',6'-diidroxí-4'-metoxichalcona (**3**) e 5-hidroxí-7-metoxiflavanona (**4**) (Figura 3).

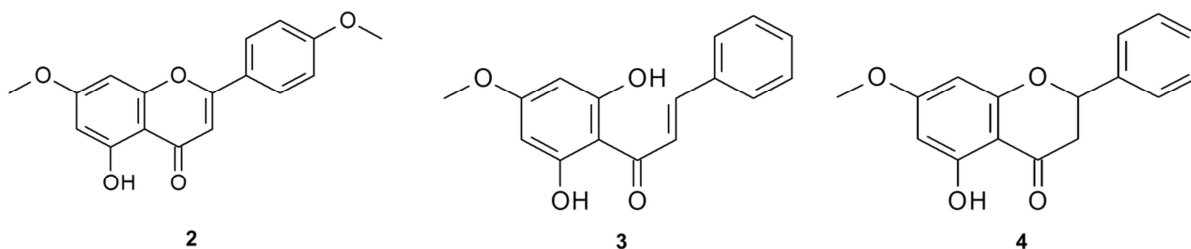


Figura 3. Constituintes isolados de *M. obtusa*, 7,4'-dimetilapigenina (2), 2',6'-diidroxí-4'-metoxichalcona (3) e 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (4).

Neste estudo (SOUZA, 2011), a fração denominada Apf50 mostrou-se ativa para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* e a substância isolada 7,4'-dimetilapigenina mostrou-se ativa para os fungos *Fonsecaea pedrosoi*, *Microsporum canis* e *Microsporum gypseum*. No estudo do mesmo grupo de pesquisa a fração hexânica apresentou-se ativa contra *Leishmania amazonenses* com CIM de 49,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, contra *L. chagasi* esta fração foi menos ativa com CIM de 139 $\mu\text{g mL}^{-1}$, porém os constituintes isolados não apresentaram atividade antileishmaníases (MARQUES *et al.*, 2013).

1.3 O GÊNERO *Piper*

O gênero *Piper*, é o maior gênero da família Piperaceae, apresentando distribuição pantropical, sendo constituído por arbustos, ervas e lianas (JARAMILLO; MANOS; 2001). A espécie *Piper cubataonum* C. DC. (Figura 4), ocorre no Sudeste do Brasil, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (MONTEIRO; GUIMARÃES, 2009). Esta espécie apresenta-se como um arbusto de 1 a 3 m de altura, com ramos decumbentes, tricomas vilosos que se distribuem por quase toda a planta e se mostram alvos em material fresco. Além disso, apresenta lâminas ovadas e espigas eretas, florescendo e frutificando de novembro a março (MONTEIRO; GUIMARÃES, 2009).



Figura 4. Espécie *Piper cubataonum*.

As espécies do gênero *Piper* têm sido amplamente estudadas e são particularmente ricas em constituintes químicos com potencial econômico e/ou implicações ecológicas. Dentre as espécies estudadas, diferentes compostos têm sido encontrados como: alcaloides/amidas (5), lignanas (6), flavonoides (7), neolignanas (8), alilfenóis (9), esteroides, pironas (10), terpenos (11), chalconas (12), entre outros (Figura 5). Os metabólitos secundários têm sido encontrados em todas as partes da planta, incluindo folhas, caules, raízes e inflorescência (SENGUPTA; RAY, 1987; PARMAR *et al.*, 1997; DYER *et al.*, 2004).

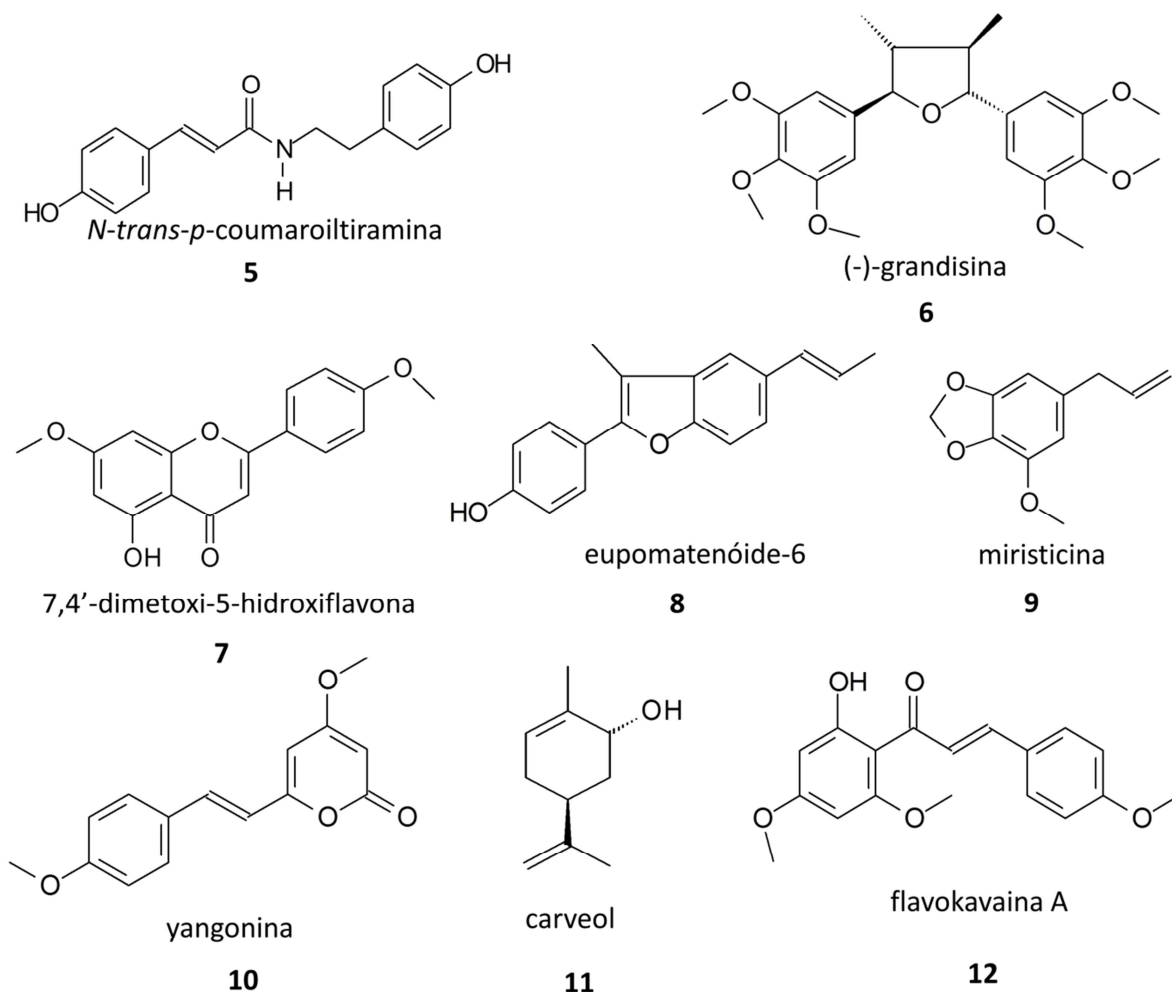


Figura 5. Constituintes químicos isolados do gênero *Piper* (5-12).

Até 2004, apenas 10% das espécies de *Piper* haviam sido fitoquimicamente estudadas. Nestas espécies encontraram-se 667 compostos diferentes, distribuídos como segue: 190 alcaloides/amidas, 49 lignanas, 70 neolignanas, 97 terpenos, 39 propenilfenóis, 15 esteroides, 18 kavapironas, 17 chalconas/diidrochalconas, 16 flavonas, 6 flavanonas, 4 piperolídeos e 146 de outros compostos que não se enquadram em um grupo comum maior de metabólitos secundários (DYER; RICHARDS; DODSON; 2004).

Dentre os constituintes isolados, algumas propriedades biológicas têm sido encontradas como: atividade antimicrobiana, inseticida, anti-inflamatória, anticancerígena, antileishmaniose, hepatoprotetora, antioxidante entre outras (PARMAR *et al.*, 1997).

1.4 CONSTITUINTES ISOLADOS DAS ESPÉCIES

Este trabalho contempla o isolamento de constituintes químicos de *M. obtusa* e *P. cubataonum*, e a análise de óleos essenciais. Dentre as classes isoladas destaca-se as piperamidas, aristolactamas e lignanas. Desta forma, realizou-se uma revisão destas

classes, descrevendo a ocorrência destes constituintes em *Piper* e *Manekia*, juntamente com uma subseção de óleos essenciais.

1.4.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal, obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Podem apresentar-se isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados (ANVISA, 1999).

Existem inúmeras espécies vegetais que apresentam espécies aromáticas, dentre elas encontram-se as espécies das famílias: Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Pinaceae, Piperaceae, Rutaceae e Verbenaceae (SIMÕES *et al.*, 2003; BANDONI; CZEPAK, 2008).

Diversas espécies da família Piperaceae têm seus óleos essenciais estudados e caracterizados quimicamente, dentre elas as espécies *Piper hispidinervium* e *Piper callosum* que possuem elevado teor de safrol em suas partes aéreas. O safrol é importante industrialmente devido a presença do grupo piperonila, o qual a partir de transformações químicas, é possível obter o piperonal e ácido piperonílico utilizados na indústria farmacêutica e no comércio de perfumes e cosméticos (MAIA *et al.*, 1987). Através do grupo piperonila pode-se obter também o butóxido de piperonila, importante para a síntese de inseticidas à base de piretroides (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). O safrol pode ser utilizado ainda como matéria prima na preparação de fármacos de natureza catecólica, como dopamina, isoproterenol, α -metil dopa, entre outros (COSTA, 2000).

Devido a sua frequente presença nos vegetais e variedade na composição química, os óleos essenciais constituem objetos de extensivos estudos visando identificar atividades biológicas, e os resultados apontam um potencial terapêutico importante (HENRIQUES; SIMÕES-PIRES; APEL, 2007). São muitas as propriedades farmacológicas atribuídas aos óleos essenciais, como por exemplo, ação antiespasmódica, ação sobre o aparelho digestivo, ação cardiovascular, ação antiparasitária, ação sobre o SNC, ação anti-inflamatória, ação antiséptica entre outros (SIMÕES *et al.*, 2003; CUNHA; CAVALEIRO; SALGUEIRO, 2005; BANDONI; CZEPAK, 2008).

1.4.2 Identificação de óleos essenciais por cromatografia em fase gasosa

Atualmente CG-EM é a técnica associada mais frequentemente utilizada para a caracterização e identificação dos óleos voláteis. Um vez que os óleos essenciais contém

centenas de constituintes, co-eluições são inevitáveis. Desta forma, uma separação completa de todos os constituintes da amostra muitas vezes não é alcançada, devido a esta complexidade da composição dos óleos e a da análise (alto número de componentes, co-eluições devido à similaridade e isômeros) (SILVA, CARDEAL; MARRIOT, 2008; MATEUS *et al.*, 2010). Amostras como petróleo e derivados, alimentos, perfumes e amostras ambientais, apresentam a mesma característica, sendo frequentemente muito complexas, para que se possa atingir a separação de seus constituintes em apenas uma fase estacionária (ZINI, 2009).

A alta complexidade dos cromatogramas necessitam de novos caminhos da cromatografia, como a Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente (CG×CG), na qual duas separações com mecanismos diferentes são aplicadas em todo analito, criando uma separação ortogonal (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003).

Para que uma técnica cromatográfica multidimensional seja considerada abrangente, todo o efluente da primeira dimensão, ou uma parte suficientemente representativa do mesmo, deverá ser introduzido na segunda dimensão, mantendo as características da separação ocorrida na primeira dimensão. Se apenas algumas regiões da primeira dimensão forem introduzidas na segunda, a técnica será multidimensional, mas não abrangente. Na cromatografia em fase Gasosa Bidimensional (CG-CG) de frações parciais (heart-cut), pequenas frações do efluente da primeira coluna são transferidas para uma segunda coluna, sendo, portanto, uma técnica não abrangente (MÜHLEN *et al.*, 2007).

A primeira tentativa de implantação de uma separação bidimensional em cromatografia em fase gasosa foi em 1958 por Simmons e Snyder, porém foi em 1991, que nasceu a CG×CG, através da contribuição de Liu e Phillips, cujo sistema é caracterizado pela utilização sequencial de duas colunas (MÜHLEN *et al.*, 2007; ZINI, 2009).

A grande vantagem da CG×CG frente à CG-CG ou a CG monodimensional é a grande capacidade de pico da técnica, definida como número máximo de compostos que podem ser separados em uma mesma análise. Portanto, pode-se dizer que a capacidade de pico da 1D é n_1 sinais, enquanto que a da 2D é n_2 sinais, podendo-se dizer que a capacidade de picos da CG×CG será $n_1 \times n_2$ sinais visto que toda a amostra é submetida à separação em ambas as colunas. Comparativamente, a capacidade de pico da CG-CG será $n_1 + n_2$, uma vez que apenas uma fração da amostra é submetida à separação na 2D (PEDROSO *et al.*, 2009), conforme observado na Figura 6.

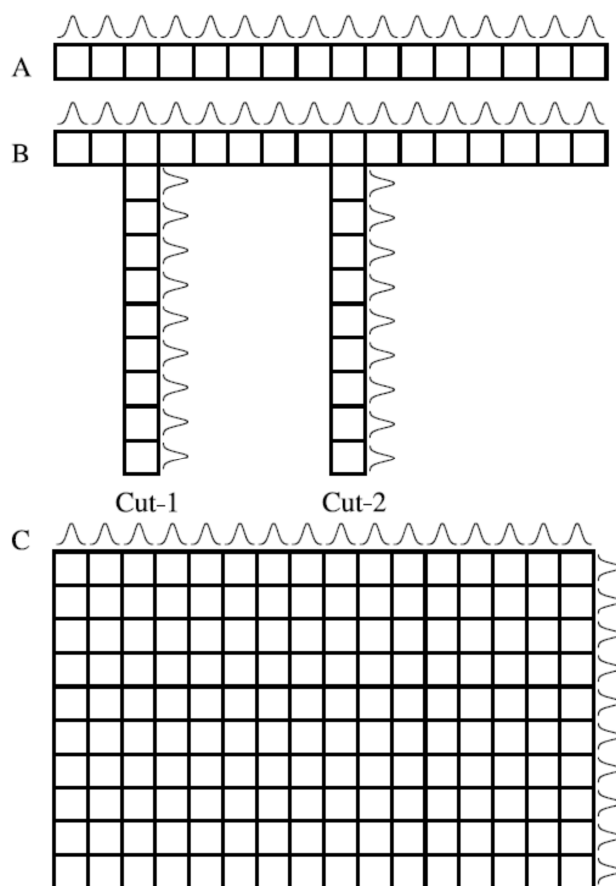


Figura 6. Representação do aumento da capacidade do pico: (A) CG monodimensional; (B) CG-CG e (C) CGxCG. Fonte: SHELLIE, R.; MARRIOTT, P. Opportunities for ultra-high resolution analysis of essential oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 18, p. 179-191, 2003.

A CGxCG apresenta dois diferentes mecanismos de separação (ortogonais), as quais são aplicadas em toda a amostra. A amostra é primeiramente separada através de uma coluna capilar de CG com dimensões convencionais de 15–30 m x 0,25-0,32 mm de diâmetro interno x 0,1–1 μm de espessura do filme, com tempo de análise de 45 a 120 minutos e usando programação de temperatura. A fase estacionária geralmente utilizada na 1D é apolar (100% polidimetilsiloxano ou 5% fenil-polimetilsiloxano), porém diferentes fases podem ser utilizadas, de acordo com as características da amostra. Uma interface, denominada modulador é usada para separar o efluente da primeira coluna em um grande número de pequenas frações. Desta forma, cada fração individual é refocada, e injetada na segunda coluna, a qual é menor e mais fina que a primeira, apresentando como dimensões 1-2 m x 0,1 de diâmetro interno x 0,1 μm de espessura de filme e análises extremamente rápidas 1-10 s, consideradas essencialmente isotérmicas. A separação em segunda coluna utiliza fase estacionária diferente da primeira dimensão, sendo geralmente polar ou de acordo com a natureza da amostra (polietilenoglicol - Carbowax ou 50% fenil-polidimetilsiloxano), garantindo a condição ortogonal requerida para a separação (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003).

Em um sistema de colunas convencional apolar x polar, a separação em uma primeira dimensão ocorre essencialmente pelas pressões de vapor dos analitos e a inserção de uma segunda coluna polar, faz com que analitos, com pressões de vapores próximas possam ser separadas de acordo com a suas interações polares. Existem ainda os sistemas inversos polar x apolar, bem como uso de outros tipos de coluna como de média polaridade, enantioseletiva, entre outros, que deve ser previamente testado de acordo com a amostra a ser analisada (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003, ZINI, 2009).

O modulador é considerado o coração de um sistema CG×CG. A introdução de um modulador entre as duas colunas faz com que o efluente da primeira dimensão seja introduzido na segunda dimensão, preservando a separação alcançada na 1D. Existem dois tipos básicos de interfaces: a base de válvulas e moduladores térmicos (que se dividem em de aquecimento e criogênico) (ZINI, 2009). O primeiro engloba dispositivos baseados em válvulas dispersoras de comando eletrônico ou pneumático instaladas entre as colunas. Esses moduladores apresentam como grande inconveniente o fato de não haver reconcentração das frações (PEDROSO *et al.*, 2009).

Moduladores térmicos do tipo criogênico empregam jatos de fluido criogênico (CO₂ ou N₂) diretamente sobre a coluna, gerando uma armadilha criogênica. Válvulas instaladas fora do forno são abertas e fechadas sincronizadamente, criando ciclos de modulação através do resfriamento alternado de seções da 2D. As principais vantagens destes moduladores são sua robustez (eles não têm partes móveis) e a alta eficiência de resfriamento. Estes moduladores são os mais empregados e apesar do amplo uso, não existe um único modelo que seja considerado melhor para todas as aplicações (PEDROSO *et al.*, 2009; ZINI, 2009).

Independente do modelo, um modulador deve apresentar três funções: 1) continuamente acumular frações de efluente da 1D; 2) refocar as frações retidas; e 3) injetar as frações retidas como pequenas frações na coluna da segunda dimensão (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003).

A Figura 7, exemplifica o processo de separação através de CG×CG, em que uma banda cromatográfica larga, que apresenta co-eluição de três analitos na 1D (A), é fracionada e eluída na 2D, gerando um cromatograma bruto (B). Os cromatogramas individuais das frações são transformados através de softwares adequados (C) e geram gráficos $\text{signal} \times {}^1t_R \times {}^2t_R$ como diagrama tridimensional (D). Além disso, observa-se que a compressão das bandas cromatográficas decorrente da modulação proporciona um aumento significativo da detectabilidade: ao invés de eluir como um sinal largo e pouco intenso, cada analito elui como uma série de sinais estreitos e intensos (altas relações sinal/ruído), sendo facilmente detectados (PEDROSO *et al.*, 2009).

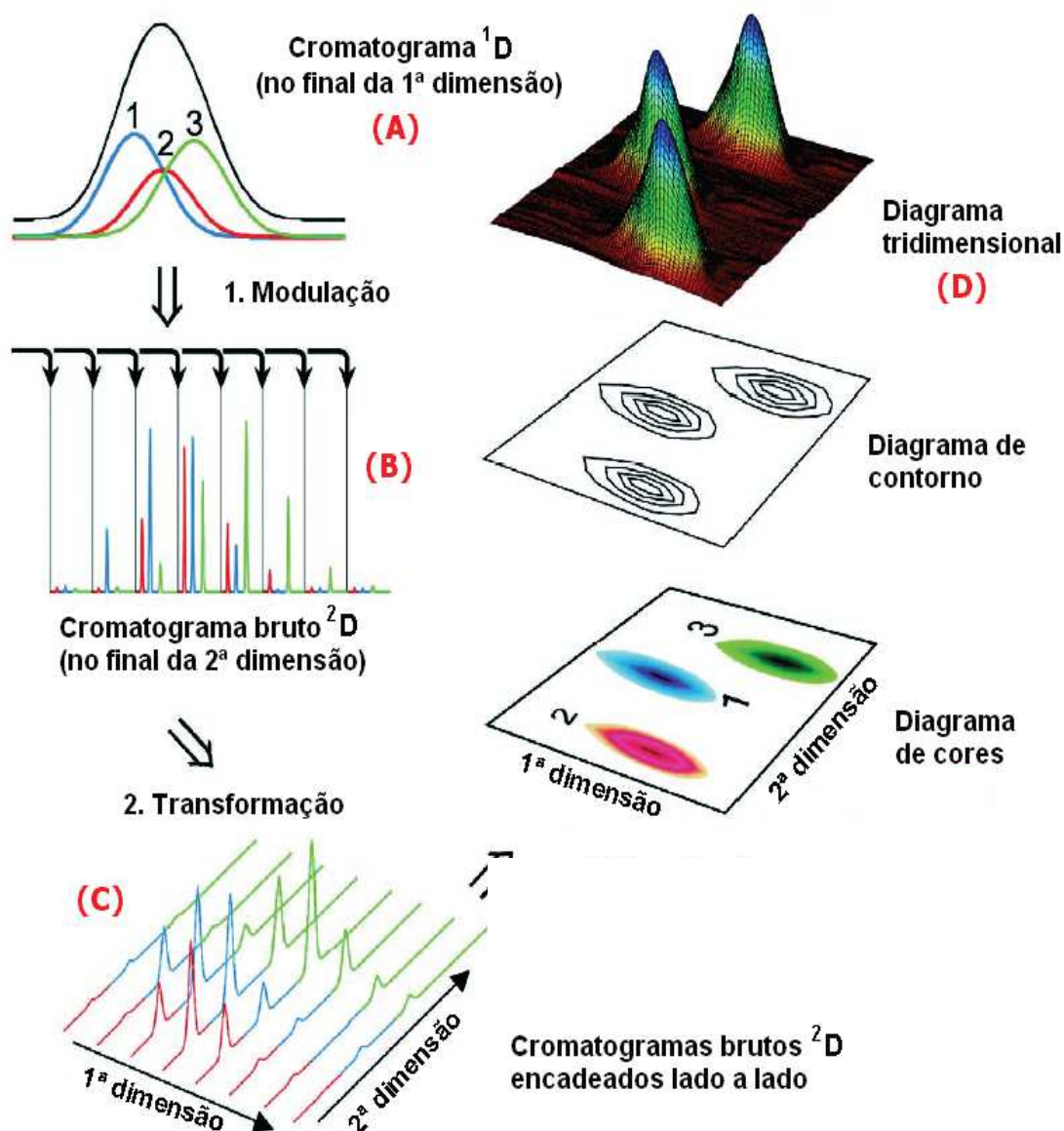


Figura 7. Construção de diagrama tridimensional. Fonte: PEDROSO, M. P. *et al.* Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). *Química Nova*, v. 32. n. 2, p. 421-430, 2009.

O processo de modulação resulta em sinais com largura de 100 a 600 ms (10 a 50 vezes mais estreitos que na 1D-CG), o que requer detectores mais rápidos, com um pequeno volume interno e com alta velocidade de aquisição dos dados para reconstruir adequadamente os cromatogramas. Inicialmente a detecção CG×CG era limitada ao detector de ionização de chamas (DIC), uma vez que detectores modernos de DIC possuem um volume interno desprezível e podem adquirir dados nas frequências de 50-200 Hz (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003).

O uso de um detector de espectrometria de massas, que possibilita a obtenção de informações estruturais para identificação dos muitos compostos separados é indispensável (ZINI, 2009). Recentemente o espectrômetro de massas por tempo de voo (TOF) tem ganhado popularidade como um detector rápido. A frequência de aquisição de

um TOF varia de 50 a 500 Hz, o que o torna um detector ideal para investigação sobre informações estruturais. Por outro lado, os espectrômetros quadrupolos são extremamente populares e mais baratos que os TOF. Estes espectrômetros apresentam uma baixa velocidade de varredura (~20 Hz), resultando de três a cinco pontos de leitura ao longo dos sinais da segunda dimensão. Porém, é possível obter uma maior taxa de aquisição e resultados satisfatórios, através da diminuição da faixa de massas investigada ou monitorar apenas alguns íons durante a corrida (SHELLIE; MARRIOT; HUIE, 2003; PEDROSO *et al.*, 2009; ZINI, 2009).

A introdução de uma varredura rápida através dos espectrômetros quadrupolos, atua como um estímulo para a expansão da técnica, fazendo com que diversos grupos de pesquisas utilizem este sistema para CG×CG (MONDELLO *et al.*, 2008).

1.4.3 Amidas - piperamidas

As amidas são os maiores constituintes do gênero *Piper*. As amidas naturais podem ocorrer como alcanoidas de cadeia aberta, aristolactamas, 4,5-dioxoaporfínicos, ceramidas, amidas piperidínicas, piperidínicas e piperidínicas, ciclobutamidas e cicloexamidas. O termo piperamida é restrito para descrever todos os compostos com a presença de um grupo aromático e um grupo amida (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

Dados recentes revelam no total 277 amidas isoladas até 2012, o que representa 92% do número de metabólitos secundários encontrados no gênero *Piper*. Muitas dessas amidas apresentam atividades biológicas, como atividade antiplaquetária, anti-inflamatória, antifúngica, anticancerígena, antimicrobiana, alelopática, antileishmaniose, inseticida, hepatoprotetora entre outras (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

A rota biossintética das amidas varia de acordo com a estrutura química. Para a amida aegélica (**1**) anteriormente isolada de *M. obtusa*, o ácido chiquímico é o precursor comum para gerar as duas unidades envolvidas na condensação final da biossíntese, sendo a fenilalanina e a tirosina (Figura 8). A fenilalanina sofre desaminação resultando no ácido cinâmico e a tirosina sofre descarboxilação e posterior hidroxilação resultando na β -hidroxitiramina. A condensação das duas unidades resulta na amida aegélica (FERNANDES, 2006).

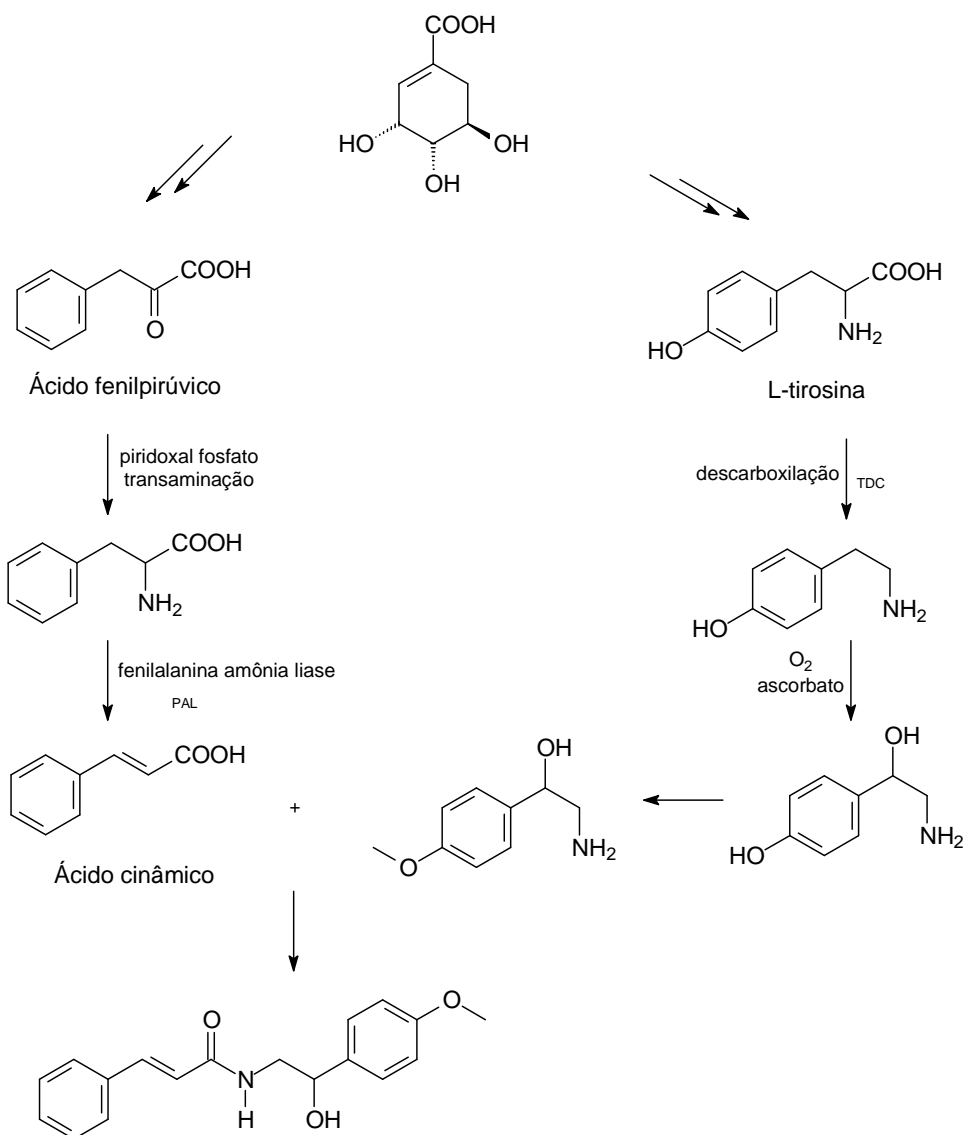
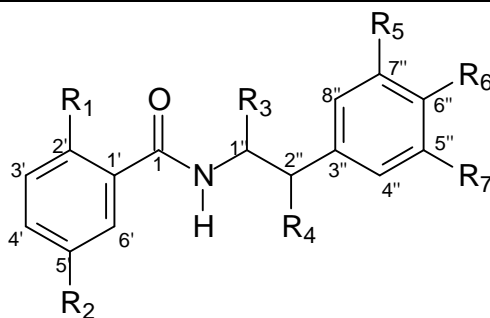
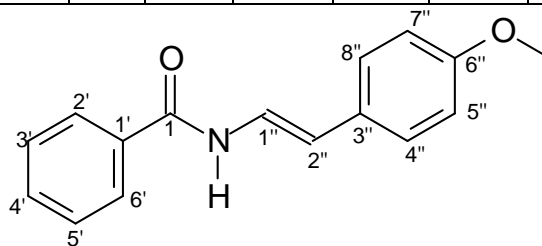


Figura 8. Proposta biossintética para aegelina. Fonte: FERNANDES, G. G. Avaliação Fitoquímica de *Sarcorhachis obtusa* – Piperaceae. 80f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

Baseado nos artigos de revisão de Parmar *et al.* (1997), Nascimento *et al.* (2012), Gutierrez; Gonzalez; Vadillo (2013), foi construída a Tabela 1, com as piperamidas simples encontradas no gênero *Piper* e *Manekia*, que apresentam estrutura química semelhante à substância isolada de *M. obtusa*, aegelina. Uma revisão completa de todas as amidas isoladas de *Piper* pode ser obtida nos artigos citados acima.

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de *Piper* e *Manekia*.

Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Espécie	Referência
taiwanamida A	OH	OMe	H	H	H	OMe	OMe	<i>P. taiwanense</i>	CHEN; CHEN; LIAO, 2007
taiwanamida B	OMe	OMe	H	H	H	OMe	OMe	<i>P. taiwanense</i>	CHEN; CHEN; LIAO, 2007
taiwanamida C	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	OMe	<i>P. taiwanense</i>	CHEN; CHEN; LIAO, 2007
acetato de tembamida	H	H	H	OAc	H	OMe	H	<i>P. guayranum</i>	MAXWELL; RAMPERSA, 1989
<i>N</i> -benzoil fenilalanina	H	H	Ac	H	H	H	H	<i>P. auratiacum</i>	BANERGI <i>et al.</i> , 1979
aduncamida	OH	OMe	H	H	H	OH	OMe	<i>P. aduncum</i>	ORJALA; WRIGHT; STICHER, 1993
<i>N</i> -2-(3',4',5'-trimetoxifenil)etil-2-hidroxi benzamida	OH	H	H	H	OMe	OMe	OMe	<i>P. hispidum</i>	RUIZ <i>et al.</i> , 2011



Substância	Espécie	Referência
alatumida	<i>P. guayranum</i>	MAXWELL; RAMPERSA, 1989

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de *Piper* e *Manekia* (continuação).

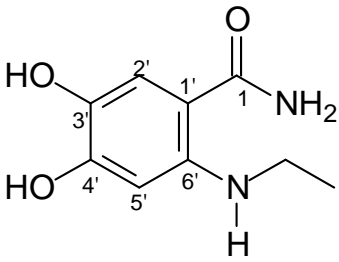
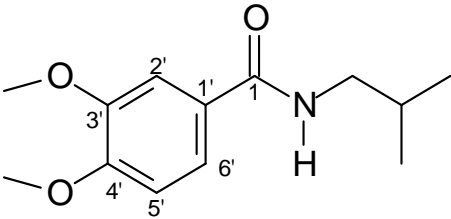
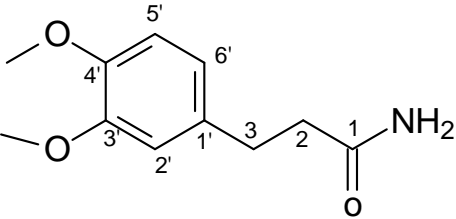
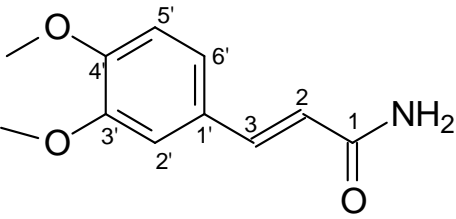
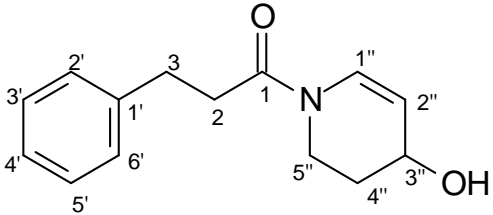
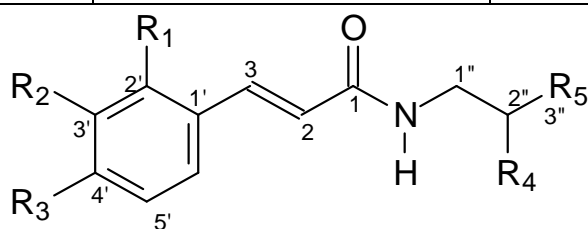
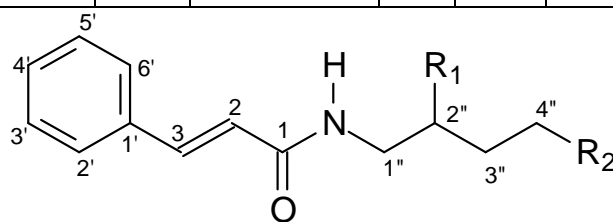
		
Substância	Espécie	Referência
3',4'-diidrox-6'-(N-etilamina)benzamida	<i>P. nigrum</i>	BANDYOPADHYAY; NARAYAN; VARIYA, 1990
		
Substância	Espécie	Referência
N-isobutil(3',4'-dimetoxi)benzamida	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
		
Substância	Espécie	Referência
3-(3',4'-dimetoxi)-propanamida	<i>P. arborícola</i>	HE <i>et al.</i> , 1981
	<i>P. sintenense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2002
		
Substância	Espécie	Referência
E-cinamamida	<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
		

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de *Piper* e *Manekia* (continuação).

Substância	Espécie	Referência
awaina	<i>P. methysticum</i>	DRAGULL; YOSHIDAB; TANG, 2003



Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
<i>N-trans</i> -(3',4'-dimetoxi cinamoil)isobutilamina	H	OMe	OMe	Me	Me	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
<i>N-trans</i> -(2',3',4'-trimetoxicinamoil)isobutilamina	OMe	OMe	OMe	Me	Me	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
<i>N-trans</i> -(3',4'-metilenodioxi cinamoil)isobutilamina	H	OCH ₂ O		Me	Me	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
						<i>P. nigrum</i>	WEI <i>et al.</i> , 2004
<i>N-trans</i> -(3',4'-metilenodioxi-2'-metoxicinamoil)isobutilamina	OMe	OCH ₂ O		Me	Me	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
<i>N-trans</i> -(3',4'-metilenodioxicinamoil) isopentilamina	H	OCH ₂ O		Me	Et	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986
<i>N-trans</i> -(3',4'-metilenodioxicinamoil) <i>n</i> -pentilamina	H	OCH ₂ O		H	<i>n</i> -propil	<i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1986



Substância	R ₁	R ₂	Espécie	Referência
piperlotina J	OAc	OH	<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007
piperlotina K	OH	OH	<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007
piperlotina L	OAc	OAc	<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de *Piper* e *Manekia* (continuação).

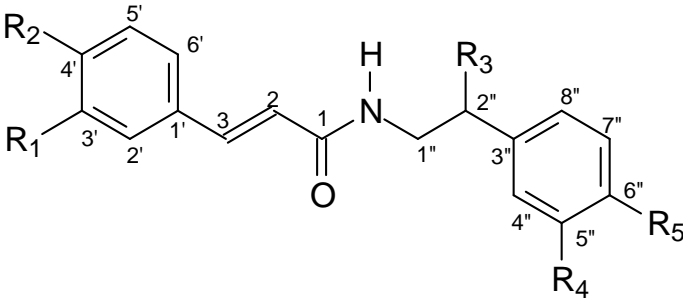
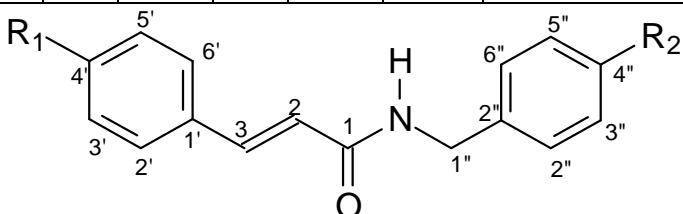
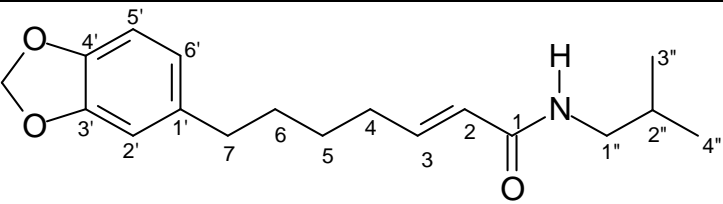
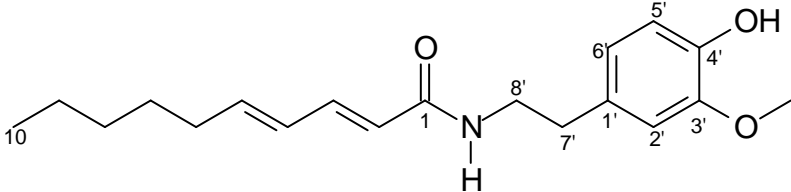
							
Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
<i>N-trans</i> -cinamoiltiramina	H	H	H	H	OH	<i>P. steerni</i>	POSSO; DIAZ; DIAZ, 1994
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
<i>N-trans</i> -feruloil-3- <i>O</i> -metildopamina	OH	OMe	H	OMe	OH	<i>P. philippinum</i>	CHEN; LIAO; CHEN, 2007
<i>N-trans-p</i> -coumaroiltiramina	H	OH	H	H	OH	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. kadsura</i>	LIN <i>et al.</i> , 2006
						<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
						<i>P. sanctum</i>	MATA <i>et al.</i> , 2004
<i>N-trans</i> -feruloiltiramina	OH	OMe	H	H	OH	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. nigrum</i>	NAKATANI; INATANI; FUWA, 1980
						<i>P. sanctum</i>	MATA <i>et al.</i> , 2004
<i>N-cis</i> -feruloiltiramina	OH	OMe	H	H	OH	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
aegelina	H	H	OH	H	OMe	<i>Manekia naranjoana</i>	WILLIAMS <i>et al.</i> , 2003
							
Substância	R ₁	R ₂	Espécie		Referência		
paprazina	OH	OH	<i>P. nigrum</i>		EE <i>et al.</i> , 2009		
<i>N</i> -benzilcinamida	H	H	<i>P. submultinerve</i>		NOBSATHIAN <i>et al.</i> , 2011		

Tabela 1. Algumas amidas isoladas de *Piper e Manekia*.

		
Substância	Espécie	Referência
pipercollosidina	<i>P. callosum</i>	PRING, 1982
		
Substância	Espécie	Referência
(2E,4E)-N-[(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)etil]dec-2,4-dienamida	<i>P. boehmeriaefolium</i>	TANG <i>et al.</i> , 2011

1.4.4 Aristolactamas

As aristolactamas são substâncias que contém um grupo fenantreno, as quais fazem parte de uma classe de compostos geralmente encontrada na família Aristolochiaceae. Elas também têm sido descritas nas espécies das famílias Annonaceae, Monimimaceae, Menispermaceae e Piperaceae. Mesmo que as aristolactamas não sejam básicas, elas são classificadas como aporfínoides, visto que seus esqueletos são semelhantes aos alcaloides aporfínicos (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003).

Pouco se sabe da biossíntese das aristolactamas, elas são, contudo, biogeneticamente relacionados aos alcaloides aporfínicos dos quais são provavelmente derivados (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003), como pode ser visualizado na Figura 9. Os alcaloides 4,5-dioxaporfínicos, derivados dos aporfínicos, seriam os intermediários da biossíntese das aristolactamas. A relação estrutural entre os dois grupos de produtos naturais, sugere que o ácido aristolóquico é derivado das aristolactamas, de acordo com Castedo; Suau; Mouriño (1976) e Lin *et al.* (1997).

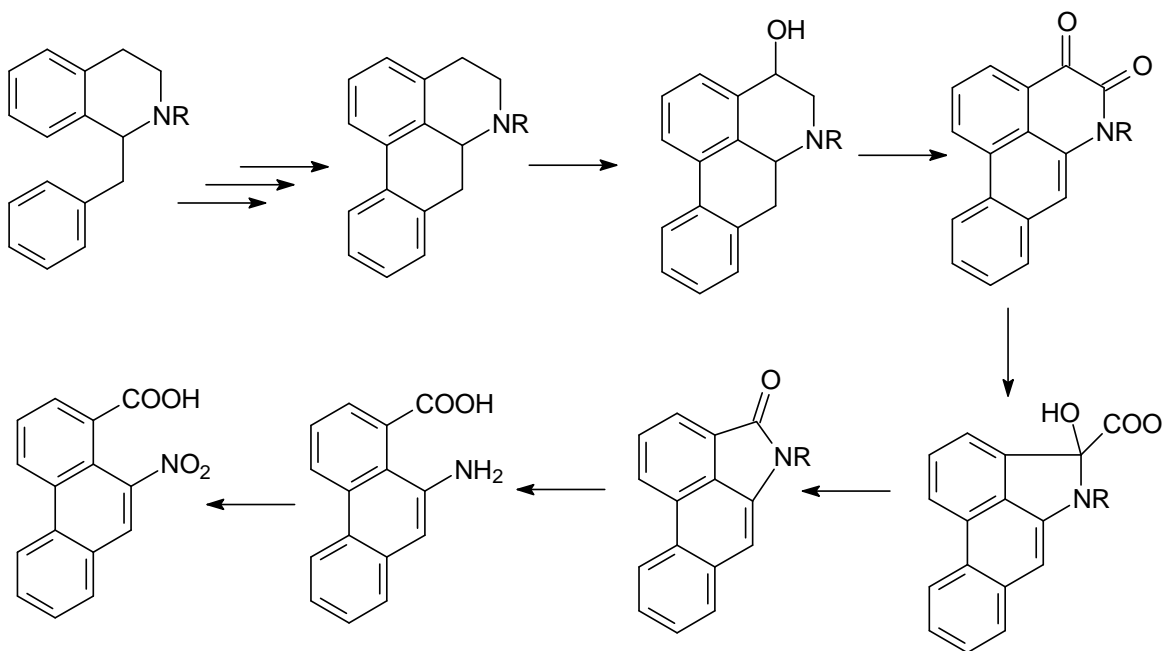
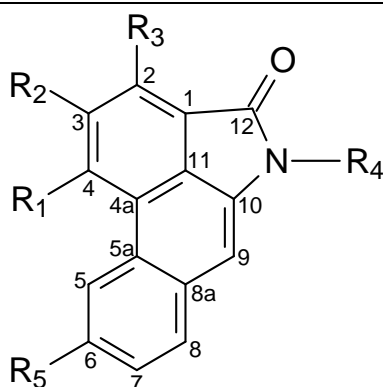


Figura 9. Proposta biossintética para aristolactamas. Fonte: CASTEDO, L.; SUAÚ, R.; MOURIÑO, A. A revised structure for pontevedrinene. *Tetrahedron Letters*, v.17, n. 6, p. 501-502, 1976. LIN, W-H. *et al.* Alkaloids from the roots of *Aristolochia triangularis* (I). *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n. 1, p. 8-13, 1997.

As aristolactamas apresentam diversas atividades biológicas como atividade anticancerígena, antimicrobiana, neuroprotetora, antimalárica, anti-inflamatória, antioxidante e citotóxico (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003).

O isolamento de cefaranona B, aristolactama A II, piperolactama A e B (Tabela 2), de *Piper longum* foi o primeiro relato da ocorrência de aristolactamas na família Piperaceae (DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988). Posteriormente, diversas aristolactamas foram isoladas do gênero *Piper*, como pode ser verificado em artigos de revisão como Parmar *et al.* (1997), Kumar; Prasad; Parmar (2003) e Nascimento *et al.* (2012). Através da análise desses artigos, bem como a base de dados Scifinder, elaborou-se uma revisão das aristolactamas encontradas em *Piper* (Tabela 2).

Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero *Piper*.

Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
cefaranona B	OMe	OMe	H	H	H	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. attenuatum</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. boehimeriaefolium</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989; ZHANG; WEI; CHEN, 1999
						<i>P. sanctum</i>	MATA <i>et al.</i> , 2004
						<i>P. chiadoense</i>	PENA; DIAZ, 1995
						<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI <i>et al.</i> , 1989;
						<i>P. augustum</i>	DELGADO; AUVELLA; DIAZ, 1998
						<i>P. tuberculatum</i>	ARAÚJO JUNIOR <i>et al.</i> , 1999
						<i>P. wightii</i>	BOLL <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. submultinerve</i>	NOBSATHIAN <i>et al.</i> , 2012
						<i>P. wallichii</i>	ZHAO; RUAN; CAI, 2005; WEI, <i>et al.</i> , 2011
						<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007
						<i>P. marginatum</i>	CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006
						<i>P. arborescens</i>	TSAL <i>et al.</i> , 2005
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
						<i>P. betle</i>	LIN <i>et al.</i> , 2013

Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero *Piper* (continuação).

Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
aristolactama A II	OMe	OH	H	H	H	<i>P. boehimeriaefolium</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. hamiltonii</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. hancei</i>	ZHOU; YANG; TU, 2005
						<i>P. wallichii</i>	ZHAO; RUAN; CAI, 2005; WEI, <i>et al.</i> , 2011
						<i>P. kadsura</i>	KIM <i>et al.</i> , 2011
						<i>P. attenuatum</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. betle</i>	GHOSH; BHATTACHARY, 2005; LIN <i>et al.</i> , 2013
						<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007
piperolactama A	OH	OMe	H	H	H	<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI <i>et al.</i> , 1989; LIU <i>et al.</i> , 2009
						<i>P. argyrophyllum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. sanctum</i>	MATA <i>et al.</i> , 2004
						<i>P. boehimerifolium</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. attenuatum</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. hamiltonii</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. wightii</i>	BOLL <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. submultinerve</i>	NOBSATHIAN <i>et al.</i> , 2012
						<i>P. kadsura</i>	KIM <i>et al.</i> , 2011
						<i>P. lolot</i>	LI <i>et al.</i> , 2007
						<i>P. philippinum</i>	CHEN; LIAO; CHEN, 2007
						<i>P. marginatum</i>	CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004

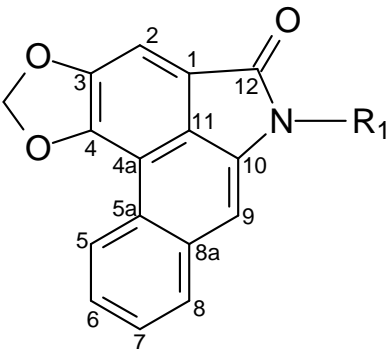
Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero *Piper* (continuação).

Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
piperolactama B	OH	OMe	OMe	H	H	<i>P. nigrum</i>	EE <i>et al.</i> , 2008
						<i>P. betle</i>	LIN <i>et al.</i> , 2013
						<i>P. acutisleginum</i>	OLSEN <i>et al.</i> , 1993
						<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. kadsura</i>	KIM <i>et al.</i> , 2011
						<i>P. arborescens</i>	TSAI <i>et al.</i> , 2005
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
piperolactama C	OMe	OMe	OMe	H	H	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. scutifolium</i>	MARQUES <i>et al.</i> , 2007
						<i>P. longum</i>	DESAI <i>et al.</i> , 1989
						<i>P. wightii</i>	BOLL <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
						<i>P. arborescens</i>	TSAI <i>et al.</i> , 2005
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
piperolactama D	OMe	OMe	OH	H	H	<i>P. argyrophylum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
						<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI; CHATURVEDI; MULCHANDANI, 1990
						<i>P. attenuatum</i>	DESAI; CHATURVEDI; MULCHANDANI, 1990
						<i>P. bogotense</i>	PENA; AVELLA; DIAZ, 2000.
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2013
						<i>P. nigrum</i>	EE <i>et al.</i> , 2008, EE <i>et al.</i> , 2009

Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero *Piper* (continuação).

Substância	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espécie	Referência
4-hidroxi-3-metoxi- <i>N</i> -metilaristolactama	OH	OMe	H	Me	H	<i>P. ribesioides</i>	LANGE <i>et al.</i> , 1992
						<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
piperolactama S	OMe	OH	H	OMe	H	<i>P. puberulum</i>	WU <i>et al.</i> , 1997
						<i>P. kadsura</i>	LIN <i>et al.</i> , 2006
piperolactama E	OH	OMe	OMe	Me	H	<i>P. taiwanense</i>	CHEN <i>et al.</i> , 2004
						<i>P. augustum</i>	DELGADO; AUVELLA; DIAZ, 1998
caldensina	OMe	OMe	H	Me	H	<i>P. caldense</i>	CARDOZO; CHAVES, 2003
aristolactama BIII	OH	OMe	H	H	OMe	<i>P. arborescens</i>	TSAI <i>et al.</i> , 2005
goniotalactama	OMe	OMe	H	H	OH	<i>P. arborescens</i>	TSAI <i>et al.</i> , 2005
goniopetalina C	OMe	OH	OMe	H	H	<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
2,3,4-trimetoxi- <i>N</i> - metilaristolactama	OMe	OMe	OMe	Me	H	<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
3-hidroxi-2-metoxi- <i>N</i> -metil aristolactama	H	OH	OMe	Me	H	<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
piperumbelactama C	OH	OH	H	OMe	H	<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
piperumbelactama A	OMe	OMe	H	OH	H	<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
piperumbelactama B	OH	OMe	H	OH	H	<i>P. umbellatum</i>	TABOPTA <i>et al.</i> , 2008
aristolactama A IIIa	OMe	OH	H	H	OH	<i>P. wallichii</i>	WEI <i>et al.</i> , 2011; ZHAO; RUAN; CAI, 2005
						<i>P. kadsura</i>	LIN <i>et al.</i> , 2006
						<i>P. hancei</i>	FENG <i>et al.</i> , 2009 ZHOU; YANG; TU, 2005

Tabela 2. Aristolactamas descritas no gênero *Piper*.

			
Substância	R ₁	Espécie	Referência
piperumbelactama D	OMe	<i>P. umbelatum</i>	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
N-hidroxi-aristolactama II	OH	<i>P. umbelatum</i>	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
cefararona A	H	<i>P. boehmeriaefolium</i>	ZHANG; WEI; CHEN, 1999
		<i>P. hancei</i>	FENG <i>et al.</i> , 2009

1.4.5 Lignanas

O termo lignana foi primeiramente introduzido por Haworth (1948) que descreveu esta classe como dímeros de unidades de fenilpropanoides (C₆-C₃) ligadas pelo átomo de carbono central C₈-C_{8'}. Gottlieb (1978) propôs que dímeros de fenilpropanoides ligados por uma ligação diferente de C₈-C_{8'}, seriam neolignanas. Além disso, são consideradas neolignanas as estruturas nas quais o átomo de oxigênio proporciona a ligação entre as duas unidades C₆-C₃ (MACRAE; TOWERS, 1984; MOSS, 2000).

As lignanas são amplamente distribuídas no Reino Vegetal. Mais de 200 constituintes desta classe foram encontrados em mais de 60 famílias. Esta classe tem revelado diversas atividades biológicas como agentes anticancerígenos, antivirais, antimicrobiana, anti-inflamatória, hepatoprotetora entre outras. Ao nível de ecologia química, há evidências que as lignanas desempenham um papel importante nas interações planta-fungo, planta-planta e planta-inseto (MACRAE; TOWERS, 1984; CUNHA *et al.* 2012).

As lignanas são biossintetizadas através do acoplamento oxidativo de duas unidades de fenilpropanoides, conforme visualizado na Figura 10. Os fenilpropanoides são derivados dos ácidos aminados *L*-fenilalanina e *L*-tirosina, sendo a primeira etapa, a eliminação de amônia da cadeia lateral para gerar um apropriado ácido cinâmico com configuração *E*. No caso de fenilalanina, originará o ácido cinâmico e a tirosina, resultará no ácido 4-coumárico. A redução destes ácidos via coenzima A, levará ao álcool correspondente, sendo os que os principais precursores das lignanas são: *p*-coumaril, coniferil e sinapil. As enzimas peroxidases ativam oxidação via um elétron do grupo fenol,

permitindo a deslocalização do elétron desemparelhado, resultando nas formas de ressonância, com o deslocamento ocorrendo até a cadeia lateral. Em seguida, o pareamento dos radicais das estruturas de ressonância resultam em um sistema dimérico reativos ao ataque nucleofílico do grupo hidroxila do mesmo sistema ou por moléculas de água externas levando aos diferentes esqueletos de lignanas, sendo a maioria das lignanas oxigenada em C₉ ou C_{9'} (MACRAE; TOWERS, 1984; DEWICK, 2009; CUNHA *et al.* 2012).

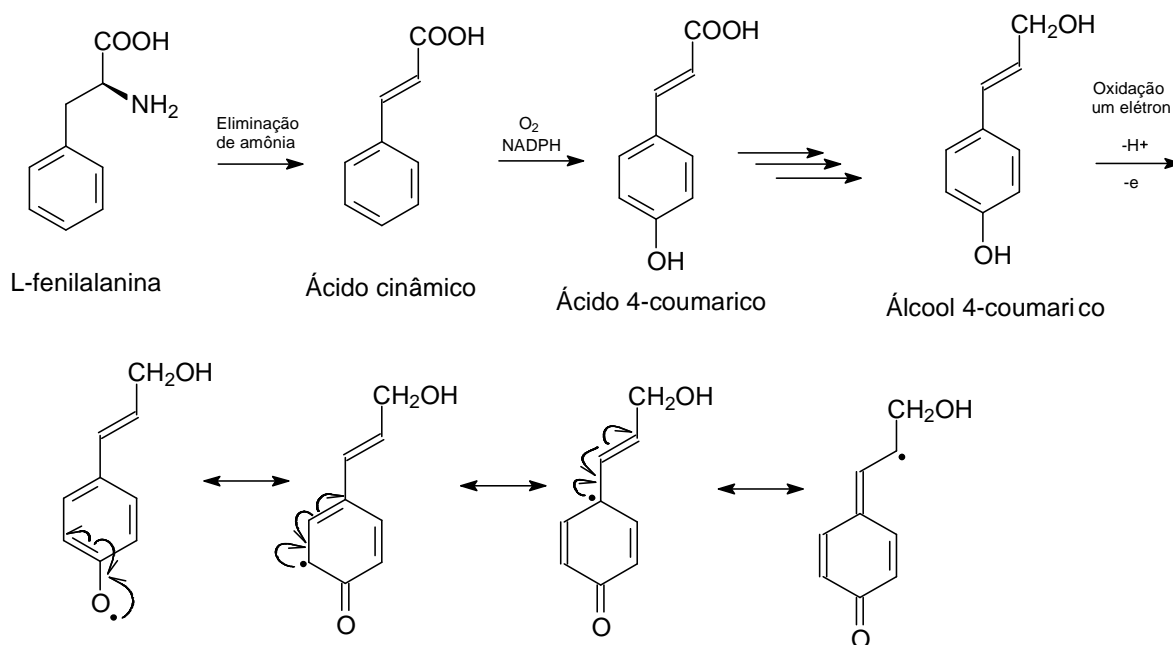


Figura 10. Proposta biossintética de lignanas.

De acordo com a incorporação do oxigênio no esqueleto e o padrão de ciclização, pode ser reconhecido oito grupos estruturais de lignanas (Figura 11), sendo: furofurano (**13**); furano (**14**); dibenzilbutano (**15**); dibenzilbutirolactona (**16**); dibenzilbutirolactol (**17**), ariltetralina (**18**); arilnaftaleno (**19**); dibenzociclooctadieno (**20**) (MACRAE; TOWERS, 1984, UMEZAWA, 2003, CUNHA *et al.*, 2012).

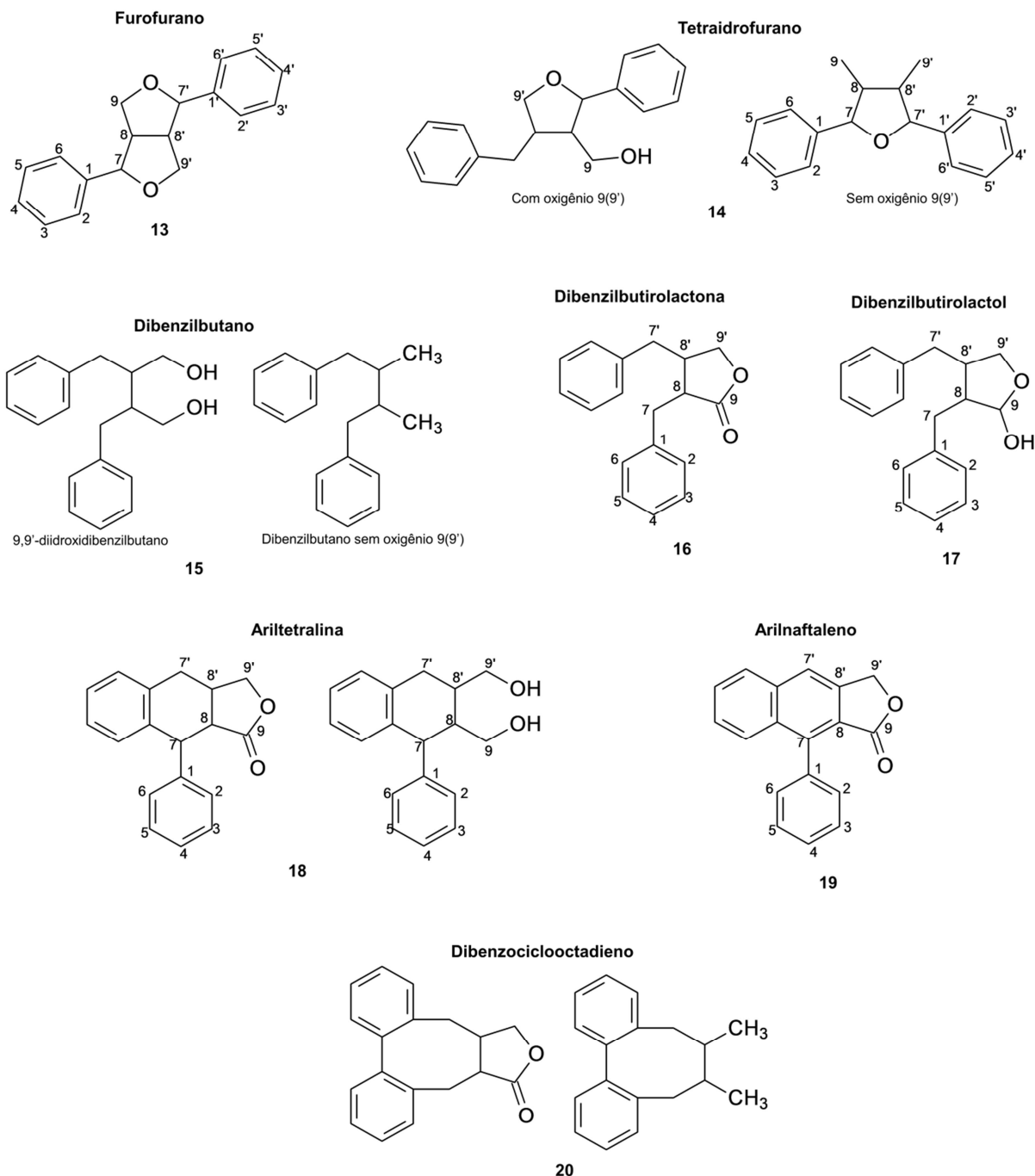


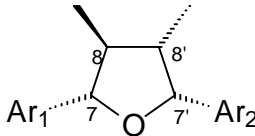
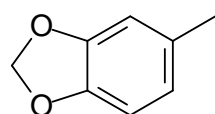
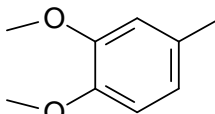
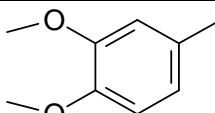
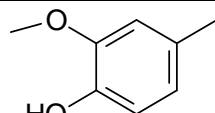
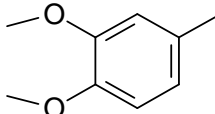
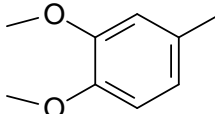
Figura 11. Diferentes esqueletos de lignanas (13-20).

É possível encontrar uma grande diversidade na ligação dos dois fenilpropanoides, bem como o grau de oxidação e tipos de substituintes. Os anéis frequentemente encontrados incluem: 3-metoxi-4-hidroxifenil (guaiacil), 3,4-dimetoxifenil (veratril), 3,4-metilenodioxifenil (piperonil), 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil (siringil) e 3,4,5-trimetoxifenil.

Um grande número de lignanas está presente na família Piperaceae, sendo que os esqueletos mais comuns são furofurano, 9,9'-diidroxidibenzilbutano,

dibenzilbutilactona, dibenzilbutilactanol e furano sem o oxigênio 9(9'), conforme descrito por Jensen; Hansen; Boll (1993), Parmar *et al.* (1997), Verza *et al.* (2009) e Gutierrez; Gonzalez; Vadillo (2013). Uma revisão das lignanas tetraidrofurânicas (sem o oxigênio 9(9')) encontradas nas espécies de *Piper*, está listada na Tabela 3.

Tabela 3. Lignanas tetraidrofurânicas encontradas em *Piper*.

<div></div>				
Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(+) -caloptina	<div></div>	<div></div>	<i>P. wightii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1994a
			<i>P. schmidtii</i>	TYAGI <i>et al.</i> , 1993
futokadsurina-A	<div></div>	<div></div>	<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
(+) -veraguensina	<div></div>	<div></div>	<i>P. futokadsura</i>	CHEN; YU; XU, 1993; KONISHI <i>et al.</i> , 2005
			<i>P. puberulum</i>	ZHANG <i>et al.</i> , 1992
			<i>P. cuneifolium</i>	ABDALLAH; IBRAHAM, 1996

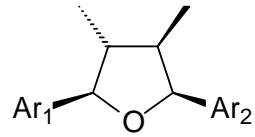
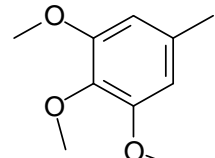
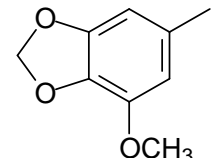
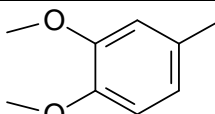
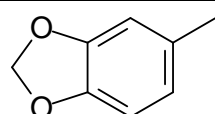
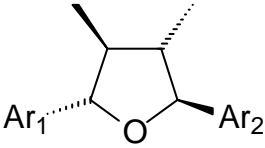
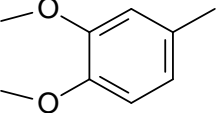
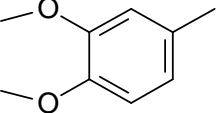
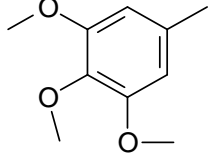
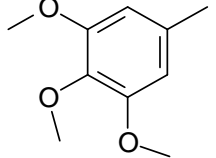
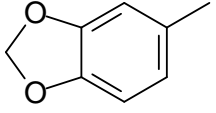
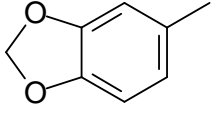
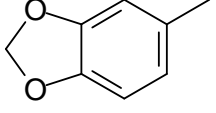
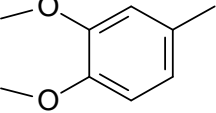
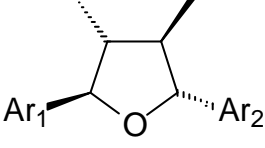
<div></div>				
Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,7' <i>S</i> ,8' <i>R</i>)- 3',4'- metilenodioxo- 3,4,5,5'- tetrametoxi-7,7'- epoxi-lignana	<div></div>	<div></div>	<i>P. solmsianum</i>	MARTINS <i>et al.</i> , 2000
futokadsurina-B	<div></div>	<div></div>	<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005

Tabela 3. Lignanas tetraidrofurânicas encontradas em *Piper* (continuação).



Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(-)-galbelgina			<i>P. wallichii</i>	DUAN; ZHANG; YU, 2010
			<i>P. thomsonii</i>	PARMAR <i>et al.</i> , 1998
			<i>P. wightii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1994
			<i>P. attenuatum</i>	SUMATHYKUTTY; RAO, 1991
			<i>P. futokadsura</i>	CHEN; YU; XU, 1993; KONISHI <i>et al.</i> , 2005
(+)-grandisina			<i>P. polysyphorum</i>	MA <i>et al.</i> , 1991
(-)-galbacina			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,7' <i>S</i> ,8' <i>S</i>)-3',4'-dimetoxi-3,4-metilenodioxi-7,7'-epoxi-lignana			<i>P. wightii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1994



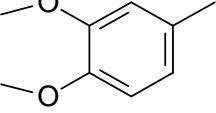
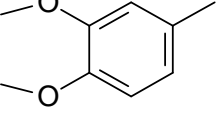
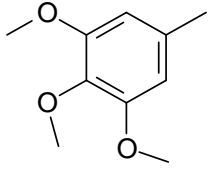
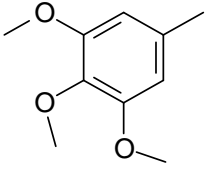
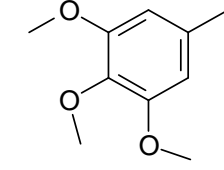
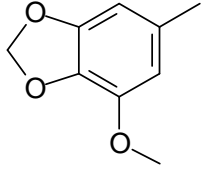
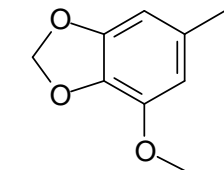
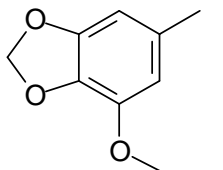
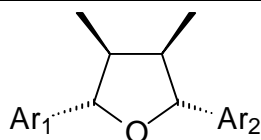
Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(+)-galbelgina			<i>P. wightii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1994 ^a

Tabela 3. Lignanans tetraidrofurânicas encontradas em *Piper* (continuação).

Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(-)-grandisina			<i>P. solmsianum</i>	MARTINS <i>et al.</i> , 2000; MARTINS <i>et al.</i> , 2003; LEITE <i>et al.</i> , 2012; RAMOS; KATO, 2012
(7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,7' <i>R</i> ,8' <i>R</i>) -3',4'- metilenodioxi- 3,4,5,5'- tetrametoxi-7,7'- epoxi-lignana			<i>P. solmsianum</i>	MARTINS <i>et al.</i> , 2003
(7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,7' <i>R</i> ,8' <i>R</i>) -3,4,3',4'- dimetilenodioxi- 5,5'-dimetoxi- 7,7'-epoxi- lignana			<i>P. solmsianum</i>	MARTINS <i>et al.</i> , 2003



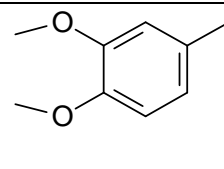
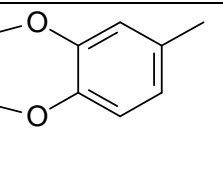
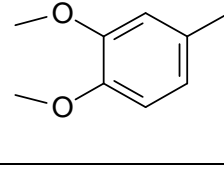
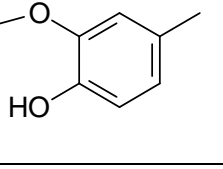
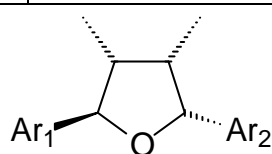
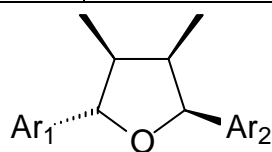
Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
galgravina			<i>P. kadsura</i>	LIN <i>et al.</i> , 2006
			<i>P. wallichii</i>	HAN <i>et al.</i> , 1989; ZHAO; RUAN, 2006
			<i>P. futokadsura</i>	CHEN; YU; XU, 1993; KONISHI <i>et al.</i> , 2005
			<i>P. schmidtii</i>	JOSHI; GARG; BHAKUNI, 1990
			<i>P. puberulum</i>	ZHANG <i>et al.</i> , 1992
machilina-F			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
			<i>P. mullesua</i>	ZHANG <i>et al.</i> , 1998

Tabela 3. Lignanas tetraidrofurânicas encontradas em *Piper* (continuação).

(-)-futokadsurina C			<i>P. kadsura</i>	KIM <i>et al.</i> , 2010
nectandrin B			<i>P. mullesua</i>	ZHANG <i>et al.</i> , 1998
			<i>P. polysyphorum</i>	ZHANG; CHEN; CHEN, 1997
(+) -machilina-G			<i>P. wightii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1994
			<i>P. schmidtii</i>	TYAGI <i>et al.</i> , 1993



Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(-)-zuionina-A			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
			<i>P. schmidtii</i>	TYAGI <i>et al.</i> , 1993
(-) -chicanina			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
(-) -machilusina-F			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005



Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,7 <i>S'</i> ,8' <i>R</i>)- diveratrildimetilt etraidrofurano			<i>P. clarkii</i>	PRASAD <i>et al.</i> , 1995

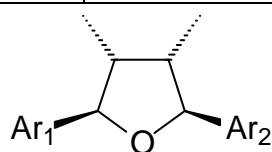
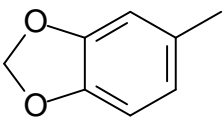
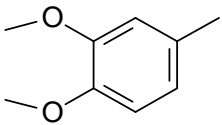
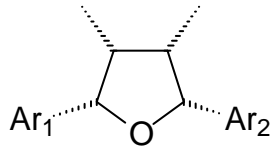
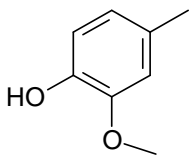
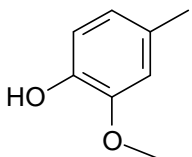


Tabela 3. Lignanas tetraidrofurânicas encontradas em *Piper*.

Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
futokadsurina-C			<i>P. futokadsura</i>	KONISHI <i>et al.</i> , 2005
				
Substância	Ar ₁	Ar ₂	Espécie	Referência
Isonectandrin B			<i>P. polysyphorum</i>	ZHANG; CHEN; CHEN, 1997

1.5 PRODUTOS NATURAIS COM ATIVIDADE BIOLÓGICA

1.5.1 Atividade antimicrobiana

Atualmente, as doenças infecciosas são a segunda maior causa de morte em todo o mundo, e infelizmente os antibióticos não são ativos contra todos os casos, sendo que para alguns microrganismos os tratamentos são cada vez mais difíceis (VON NUSSBAUM *et al.*, 2006).

Os produtos naturais mostram-se promissores para o problema crescente em relação a resistência aos antibióticos. Seu conhecimento como antimicrobianos tem sido reconhecido há centenas de anos, porém, apenas nos últimos 30 anos esta atividade tem sido cientificamente confirmada (HAYEK; GYAWALI; IBRAHIM, 2013).

Menos de 1% de todos os constituintes orgânicos conhecidos são derivados de produtos naturais. Apesar destes dados, mais da metade de todos os fármacos vendidos no período de 1981 a 2006, foram produtos naturais e/ou baseados na sua estrutura química. No que se refere aos antibacterianos este número aumenta para cerca de 75 % (NEWMAN; CRAGG, 2007; VON NUSSBAUM *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, diversos estudos foram realizados visando a atividade antimicrobiana em produtos naturais. Atualmente existe mais de 1340 plantas que foram descritas com atividade antimicrobiana (HAYEK; GYAWALI; IBRAHIM, 2013). A eficiência antimicrobiana dos constituintes em plantas dependem da estrutura química, grupos funcionais, estereoquímica e da concentração em que se encontra na espécie estudada.

Algumas classes são conhecidas por apresentarem atividade antimicrobiana como: saponinas, flavonoides, tiosulfato, glucosinolato, ácidos orgânicos e especialmente os compostos fenólicos (HAYEK; GYAWALI; IBRAHIM, 2013).

Dentro da família Piperaceae, existem diversos exemplos de extratos, constituintes isolados e óleos essenciais com potencial atividade antimicrobiana. No estudo realizado com *Piper regnellii*, identificou-se três constituintes fenólicos com potencial atividade antimicrobiana (Figura 12): eupomatenóide-5 (**21**), eupomatenóide-6 (**22**), e conocarpan (**23**), estes constituintes inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (PESSINI *et al.*, 2003; SALEEM *et al.*, 2010). Eupomatenóide-5 inibiu também o crescimento do fungo *Trichophyton rubrum* (KOROISHI *et al.*, 2008; SALEEM *et al.*, 2010).

O extrato etanólico de *Piper aduncum*, foi ativo contra *Cryptococcus neoformans* e *Mycobacterium intracellulare* e seus constituintes identificados (Figura 12) ácido 4-metóxi-3,5-bis(3'-metil benzoico) (**24**), 2,6-diidroxi-4-metoxi-chalcona (**25**), ácido nervogênico (**26**) e 2,2-dimetóxi-8-(3-metil-2-butenil)-2H-cromeno-6-ácido carboxílico (**27**) foram ativos contra *Candida albicans*, *C. neoformans*, *M. intracellulare*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (OKUNADE *et al.*, 1997).

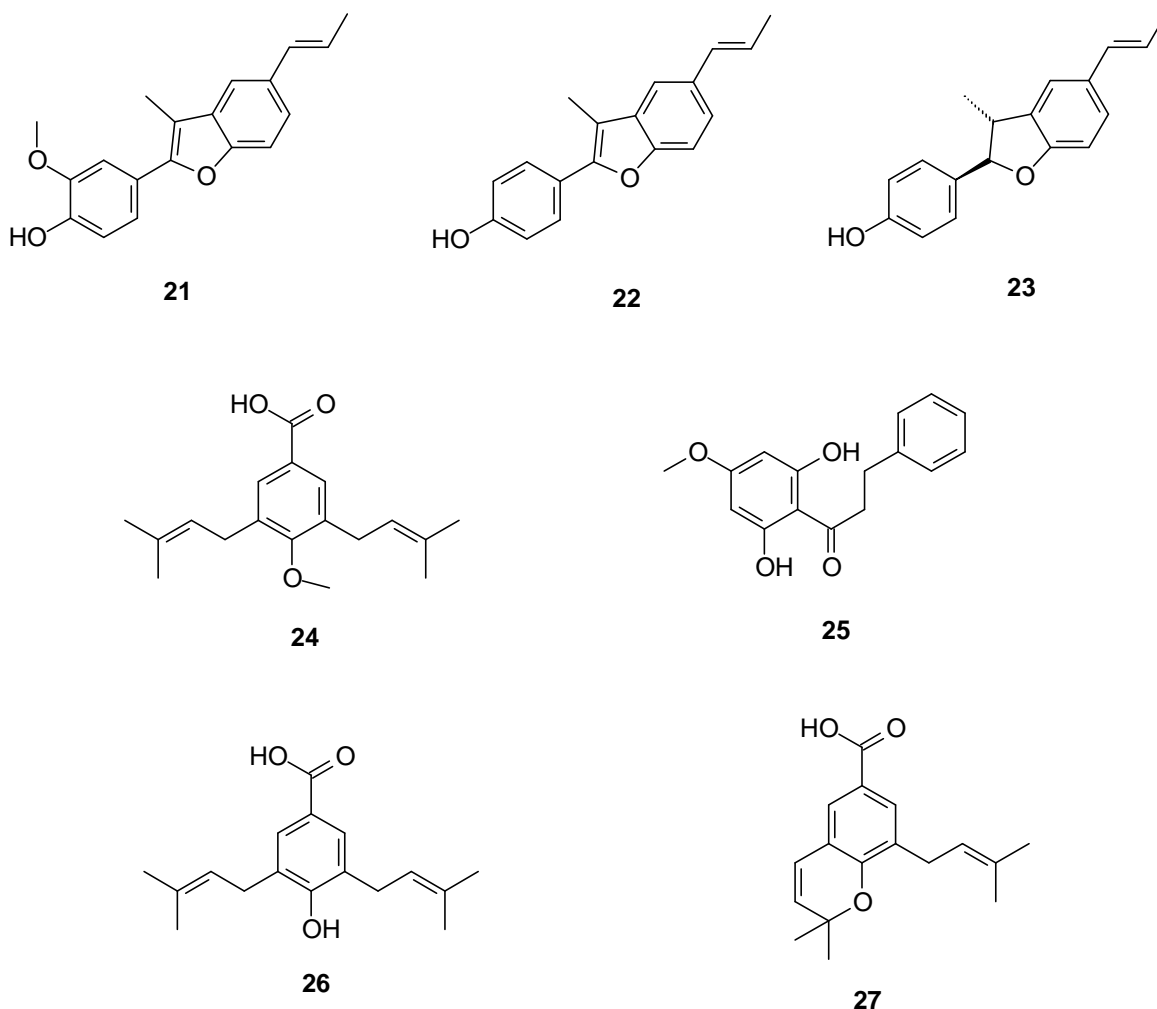


Figura 12. Alguns constituintes encontrados nas espécies de *Piper* que apresentam atividade antimicrobiana (21-27).

As propriedades antimicrobianas dos óleos voláteis de uma ampla variedade de espécies também têm sido acessadas e revisadas. Isto mostra claramente que estes metabólitos secundários têm potencial na área médica, na aplicação em cosméticos, alimentos e na indústria farmacêutica (DORMAN; DEANS, 2000).

Alguns óleos como tomilho (*Thymus sp.*), cravinho (*Syzygium aromaicum*), alfazema (*Lavandula sp.*) ou de segurelha (*Satureja sp.*) são exemplos clássicos dos que têm sido usados em medicina humana pela sua atividade antimicrobiana (CUNHA; CAVALEIRO; SALGUEIRO, 2005).

Na família Piperaceae o óleo essencial de *Piper cernuum* e de *Piper regnellii* apresentou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (COSTANTIN *et al.*, 2001). Atividade antifúngica também foi verificada para o óleo essencial da espécie *Piper malacophyllum* contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Cryptococcus neoformans* (SANTOS *et al.*, 2012).

No estudo de Dorman; Deans (2000) o óleo essencial de *Piper nigrum* apresentou atividade contra 22 microrganismos, sendo: *Acinetobacter calcoacetica*, *Alcaligenes*

faecalis, *Bacillus subtilis*, *Beneckea natriegens*, *Brevibacterium linens*, *Brocothrix thermosphacta*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Flavobacterium suaveolens*, *Leuconostoc cremoris*, *Micrococcus luteus*, *Moraxella sp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella pullorum*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica*.

Considerando o grande número de diferentes constituintes químicos presentes nos óleos essenciais, é mais provável que a sua atividade antibacteriana não é atribuível a um mecanismo específico, mas há vários alvos na célula. Há evidências que os constituintes minoritários têm um papel crucial no desempenho da atividade antibacteriana, possivelmente pela produção de sinergismo entre os outros componentes (BURT, 2004).

1.5.2 Toxidade ou atividade antitumoral

Na área dos medicamentos anticâncer mais de 50% dos fármacos aprovados no período de 1981 a 2006, foram produtos naturais e/ou baseados na sua estrutura química (NEWMAN; CRAGG, 2007).

Diversos constituintes derivados de planta tem apresentado sucesso na sua utilização no tratamento para câncer. Entre os exemplos está a vincristina, que é obtida através de *Catharanthus roseus*, sendo utilizada eficientemente nos casos de Linfoma de Hodgkin e em alguns casos de leucemia (DA ROCHA; LOPES; SCHWARTSMANN, 2001). Paclitaxel e docetaxel, inicialmente obtidos de *Camptotheca accuminata*, revelam uma conhecida atividade antitumoral contra câncer de mama e ovário (DA ROCHA; LOPES; SCHWARTSMANN, 2001). Outra substância amplamente utilizada é a podofilotoxina, uma lignana com propriedades antitumoral e antiviral, obtida de espécies do gênero *Podophyllum* (GORDALIZA, 2007).

Atualmente, mais de 30 constituintes de origem natural estão em diferentes fases de estudos clínicos para o tratamento de diferentes tipos de câncer (GORDALIZA, 2007). Os óleos essenciais e seus constituintes também têm demonstrado sua atividade antitumoral contra uma gama de células cancerosas humanas, como glioma, câncer de cólon, câncer gástrico, câncer de mama entre outros (EDRIS, 2007).

Na família Piperaceae, o extrato etanólico de *Piper longum* e seu constituinte isolado piperina (**28**) (Figura 13), apresentaram citotoxicidade contra células tumorais de ascites de linfoma de Dalton e carcinoma de ascite de Ehrlich. Além disso, o extrato e a piperina isolada também inibiram o desenvolvimento de tumores sólidos em ratos induzidos com estas células de ascites de linfoma de Dalton e aumentaram o tempo de vida de ratos portadores de carcinoma de ascite de Ehrlich (SUNILA; KUTTAN, 2004).

Piperina (de *Piper nigrum* - obtida comercialmente da Acros) e piplartina (**29**) isolada de *Piper tuberculatum*, apresentaram atividade antitumoral *in vivo* em camundongos fêmeas transplantadas com células tumorais de Sarcoma 180 (BEZERRA *et al.*, 2006). A fração hexânica e diclorometânica do extrato metanólico de *Piper methysticum*, mostraram-se ativa contra células tumorais de ovário e leucemia. Esta atividade foi relacionada aos constituintes químicos isolados *cis*-yagonina (**30**) e flavokavaina B (**31**) (Figura 13) (TABUDRAVU; JASPARS, 2005).

Outro exemplo ocorre na espécie *Piper betel*, em que observou-se toxicidade *in vitro* e atividade antitumoral *in vivo* contra câncer de próstata, da fração ativa do extrato metanólico, rica em hidroxichavicol (**32**) (Figura 13) (PARANJPE *et al.*, 2013).

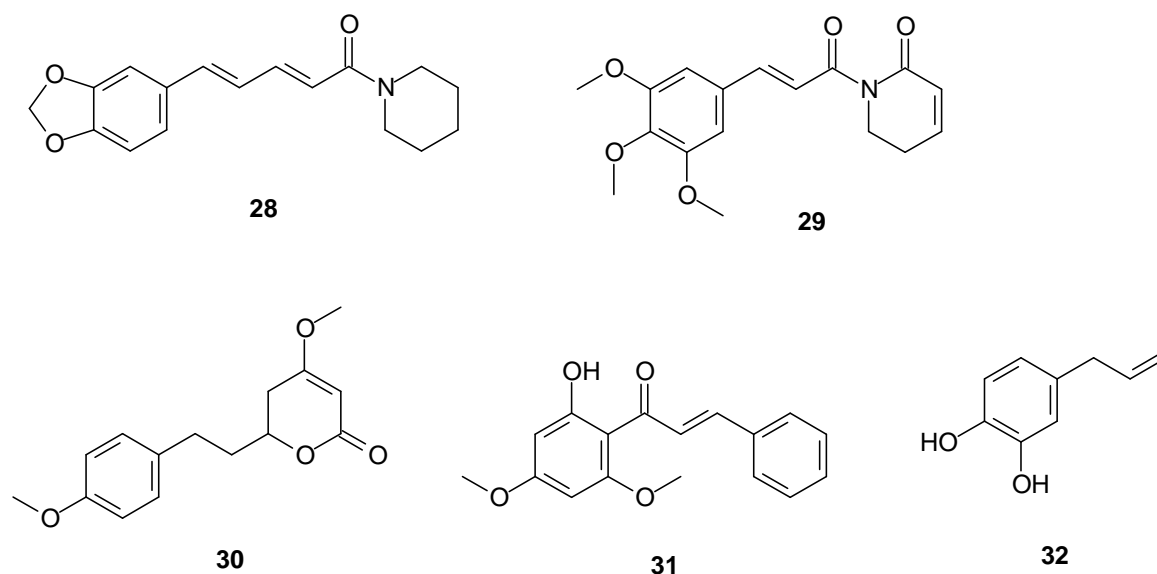


Figura 13. Algumas substâncias encontradas nas espécies de *Piper* que apresentam toxicidade ou atividade antitumoral (28-32).

1.5.3 Atividade inseticida

Os insetos são importantes consumidores da produção primária terrestre e, em particular, as larvas da ordem Lepidoptera apresentam-se como as principais consumidoras da biomassa foliar (TADEU, 1999). Este consumo pode causar danos nos alimentos e transmissão de doenças, o que resulta em perdas de safras em todo o mundo. As estimativas mundiais sugerem que a eliminação de pragas de insetos aumentaria a produção agrícola em cerca de um terço (VAN EMDEN, 1989).

Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae) é um herbívoro generalista que é a praga em numerosas espécies vegetais como algodão, tomate, alface e repolho, em várias regiões da América do Norte. Nas últimas duas décadas nos Estados Unidos, a *S. exigua* surgiu como uma praga grave no algodão em todos os estados do Sul. Este herbívoro tem uma história longa com o tratamento com inseticidas, o que resultou no

desenvolvimento de resistência a diversos compostos (MOULTON; PEPPER; DENNEHY, 2000).

A resistência adquirida por pragas como *S. exigua* e a poluição ambiental, devido à aplicação repetida de inseticidas sintéticos persistentes, têm levado a um aumento no interesse por novos produtos químicos para o controle de pragas. Inseticidas sintéticos, incluindo hexacloro benzeno, ésteres organofosforados, carbamatos, piretróides e neonicotinóides, continuam a contribuir para a produção mundial de alimentos (VIEGAS JUNIOR, 2003), gerando uma série de problemas, como contaminação ambiental, presença de altos níveis de resíduos nos alimentos, desequilíbrio biológico, surgimento de insetos resistentes e o aumento dos custos de produção. Além disso, a preocupação crescente dos consumidores quanto à qualidade dos alimentos e do ambiente, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e de baixo impacto ambiental (VIEGAS JUNIOR, 2003, ONODY, 2009), tem incentivado estudos relacionados às técnicas alternativas de controle destas pragas.

Em muitos casos, estes estudos são voltados para a busca de inseticidas botânicos ou de outros tipos de produtos naturais no controle de pragas agrícolas (FAZOLIN *et al.*, 2002, ONODY, 2009). Os constituintes das folhas têm exercido um papel crucial no ciclo de vida dos insetos atuando no seu crescimento normal e processo de desenvolvimento (HARBORNE, 2001).

De acordo com Shin-Foon e Yu-Tong (1993), produtos naturais extraídos de plantas são fontes de substâncias que podem ser utilizadas no controle de pragas, sendo compatíveis com programas de Manejo Integrado de Pragas como uma opção de controle capaz de minimizar os efeitos negativos do uso indiscriminado de inseticidas.

Várias famílias de plantas são promissoras como fontes de novos inseticidas botânicos, dentre elas, a família Piperaceae (SCOTT *et al.*, 2004), a qual observa-se inúmeras demonstrações dos fortes efeitos em herbivoria e patógenos para as classes de constituintes de *Piper*.

Apesar de diversas classes de metabólitos apresentarem conhecidas atividades inseticidas, no laboratório do prof. Dyer (Universidade de Nevada, Reno) há um interesse especial pelas amidas, visto que estudos realizados por seu grupo de pesquisa revelam o potencial desta classe como inseticida. Como por exemplo, no estudo realizado por Dyer *et al.* (2003), onde as amidas isoladas de *Piper cenocladum* (piplartina (**33**), 4'-desmetilpiplartina (**34**) e cenocladamida (**35**) influenciaram o ciclo de vida da espécie generalista *Spodoptera frugiperda* e especialista *Eois spp.* De forma semelhante, imidas isoladas de *Piper imperiale* afetaram o desenvolvimento de *Eois nympha* (RICHARDS *et al.*, 2010).

Além disso, muitas amidas da família Piperaceae foram investigadas quanto a sua atividade biológica, e demonstraram atividade inseticida (SU; HORVAT, 1981; SCOTT *et al.*, 2002; DYER *et al.*, 2003, RICHARDS *et al.*, 2010).

No estudo de Bernard *et al.* (1995), as espécies de *P. tuberculatum* e *P. guineense*, ricas em amidas, apresentaram atividade inseticida contra *Ostrinia nubilalis* (praga do milho), sendo a isobutilamida diidro-piperlonguminina (**36**), o constituinte majoritário de *P. tuberculatum* e para *P. guineense*, várias isobutilamidas foram descritas como piperida (**37**), guineensina (**38**), pellitorina (**39**) e kalecida (**40**) (Figura 14).

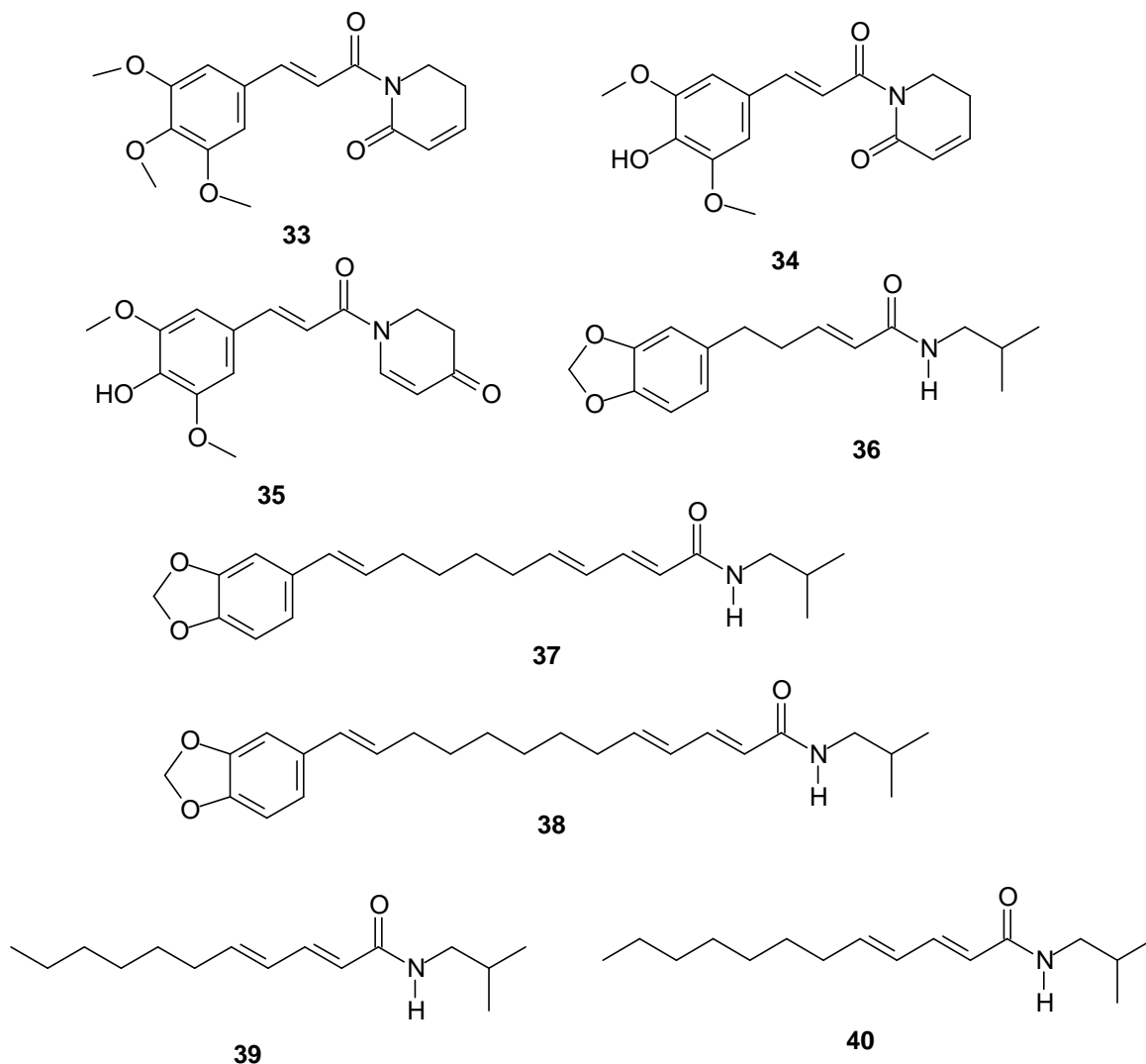


Figura 14. Algumas amidas encontradas nas espécies de *Piper* que apresentam atividade inseticida (33-40).

No estudo de Miyakado *et al.* (1980) a amida piperida de *P. nigrum* apresentou atividade inseticida contra *Callosobruchus chinensis*. De *P. nigrum* também se isolou as amidas (*E,E*)-*N*-(2-metilpropil)-2,4-decadienamida, (*E,E,E*)-13-(1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(2-metilpropil)-2,4,12-tridecatrienamida, e (*E,E,E*)-11-(1,3-benzodioxol-5-il)-(*N*)-(2-metilpropil)-2,4,10-undecatrienamida, as quais apresentaram atividade inseticida contra

Callosobruchus maculatus (SU; HORVAT, 1981). Além disso, o extrato de *P. nigrum*, rico em isobutilamidas (grande quantidade de piperina e pequenas quantidades de piperlonguminina, diidro-piperina e diidro-piperlonguminina), apresentou resultados inseticidas para diferentes lepidópteros (SCOTT *et al.*, 2002). As amidas guineesina, pellitorina, pipercida e retrofractamida, também desta espécie, revelaram ainda potente atividade inseticida contra as espécies de mosquito *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* e *A. togoi* (PARK *et al.*, 2002).

Além disso, as amidas pipernonalina e piperoctadecalidina (isoladas de *P. longum*) revelaram uma potencial atividade tóxica contra as larvas de segundo estágio de *Spodoptera litura* (PARK *et al.*, 2002).

Um exemplo de uma amida sintética bem-sucedida na área inseticida é o DEET (*N,N*-dietil-*meta*-toluamida) (Figura 15). Este repelente sintético é muito utilizado topicamente, cerca de 30% da população dos Estados Unidos e 25% da população do Reino Unido utilizam pelo menos uma vez ao ano. Esta amida mostra-se altamente eficaz contra mosquitos e artrópodes causadores de doenças, além de apresentar segurança na sua utilização, resultando notavelmente em poucos problemas de saúde (CORRÊA; SALGADO, 2011; GOODYER; BEHRENS, 1998).

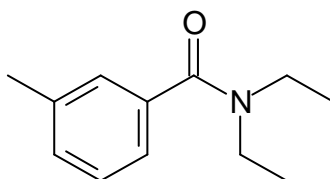


Figura 15. Estrutura química de DEET.

Estudos de síntese envolvendo amidas encontradas em *Piper* teve início no final do século 19. As primeiras sínteses foram designadas a confirmar a estrutura dos compostos isolados. Isto foi especialmente importante para confirmar o isolamento antes das avançadas técnicas espectrométricas. O aumento do interesse no isolamento, identificação e atividades biológicas interessantes de amidas encontradas em espécies de *Piper*, tem também feito delas, alvos atrativos para novas sínteses totais, exploração de novas metodologias e preparação de análogos das amidas de ocorrência natural de *Piper* para avaliar seu potencial comercial e medicinal (DYER; RICHARDS; DODSON; 2004).

Diferentes amidas sintéticas apresentaram atividade tóxica contra insetos importantes como *Ascia monuste orseis*, *Acanthoscelides obtectus*, *Brevicoryne brassicae*, *Protopolybia exigua* e *Cornitermes cumulans* (PAULA *et al.*, 2000).

Kiuchi *et al.* (1997) relataram a ação de 79 piperamidas sintéticas em larvas de segundo estágio de *Toxocara canis*. Estrela *et al.* (2003), sintetizaram amidas análogas à piperina, as quais apresentaram atividade tóxica para larvas do terceiro estágio de *Ascia monuste* e *S. frugiperda*. No estudo de Castral (2008), a amida sintética *N,N*-(piperidina)-3-(3',4'-metilenodioxifenil)-2-(*E*)-propenamida alterou o ciclo de vida de *S. frugiperda*.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral ampliar o conhecimento acerca da fitoquímica de *Manekia obtusa* e *Piper cubataonum*, juntamente com a avaliação da atividade biológica dos extratos de compostos produzidos por essas espécies.

2.2 ESPECÍFICOS

- Extração dos constituintes voláteis presentes das partes aéreas de *Manekia obtusa* e das folhas e galhos de *Piper cubataonum* e identificação dos seus componentes, através das técnicas de Cromatografia em fase Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) e Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente (CG×CG);
- Extração, fracionamento e purificação dos metabólitos secundários das partes aéreas de *Manekia obtusa* e das raízes de *Piper cubataonum*;
- Identificação dos constituintes isolados utilizando os métodos espectroscópicos e espectrométricos (RMN, EM, IV);
- Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica dos extratos e dos óleos essenciais das espécies estudadas;
- Síntese dos constituintes isolados de *Manekia obtusa*: estigmast-4-en-3-ona e (S)-aegelina;
- Síntese do análogo da aegelina, (R)-6'-desmetoxi aegelina.
- Avaliação da atividade inseticida dos constituintes isolados de *M. obtusa* sintetizados ou obtidos comercialmente e do análogo da aegelina, frente a *Spodoptera exigua*.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 SUPORTES PARA CROMATOGRAFIA E REAGENTES

• **Cromatografia em coluna (CC).** Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em coluna de vidro, utilizando como fase estacionária gel de sílica 60 com partículas entre 0,063-0,200mm (70-230 mesh) (Merck, Germany) para a realização de cromatografia em fase líquida a vácuo e à pressão atmosférica e 0,040-0,063mm (230-400 mesh) (Merck, Germany) para realização de coluna flash. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas. A proporção de sílica foi cerca de 20 vezes a massa da amostra a ser purificada (MATTOS, 1997) e no caso da coluna flash, que corresponda a uma altura de 20 cm.

• **Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA).** As análises e purificações em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas de alumínio CCD recobertas por gel de sílica 60, com indicador de fluorescência F254 e 0,2 mm de espessura (Merck, Germany).

• **Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP).** As purificações em escala preparativa foram desenvolvidas em placas de vidro de tamanho 20 x 20 cm, espessura de 1,0 mm de gel de sílica 60 (Vetec, Brasil e Machery-Nagel, Germany) com indicador de fluorescência F254. A recuperação das amostras foi efetuada utilizando como solventes: éter de petróleo, diclorometano, acetato de etila e metanol.

• **Cromatotron.** As purificações realizadas em cromatografia em camada delgada centrífuga foram desenvolvidas em placas de vidro com espessura de 1,0 mm de gel de sílica 60 (Merck, Germany) com gesso e indicador de fluorescência F254.

• **Reveladores.** A revelação das substâncias foi feita sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 366 nm, solução de anisaldeído e solução de H₂SO₄ (5% em etanol).

• **Solventes e reagentes.** Os solventes utilizados foram éter de petróleo, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona, éter etílico (Dipa e FMaia), etanol 70%, metanol (Dipa), éter etílico ultra puro (Mallinckrodt), hexano ultra puro (Mallinckrodt) e diclorometano ultra puro (Mallinckrodt). Os solventes utilizados que não apresentavam alto grau de pureza foram previamente destilados. Utilizou-se sulfato de sódio anidro (Vetec) como secante. Para análise por Ressonância Magnética Nuclear foram utilizados os solventes deuterados: clorofórmio (99,8%) (Aldrich) e metanol (99,5%) (Fluka). Nas etapas de síntese utilizaram-se reagentes da Sigma-Aldrich, cicloexanona (Janssem Chimica), tri-isopropóxido de alumínio (Eastman) e acetonitrila (EMD).

3.2 EQUIPAMENTOS

- As folhas, galhos e raízes de *Piper cubataonum* e as partes aéreas de *Manekia obtusa* foram moídos em moinho de facas Marconi, modelo TE340. As amostras foram pesadas em balança Shangping-FA2104N e Marte-AL500-257619 e os extratos concentrados em evaporador rotativo Tecnal-TE 210.

- O extrato etanólico foi liofilizado em liofilizador Edwards (Freeze Dryer) operando com bomba de vácuo Symbol (A:25).

- As purificações realizadas por camada delgada centrífuga, foram realizadas no Chromatotron® (Harrison Research), modelo 7924T.

- As análises CLAE-EM foram realizadas utilizando o equipamento MicroQTOF II Bruker, com espectrômetro quadrupolo (5 eV), equipado com uma fonte de ionização por spray de elétrons (Electrospray), aquisição em modo positivo.

- A análise monodimensional do óleo essencial foi realizada em cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010 acoplado ao detector seletivo de massas GCMS-QP2010 Plus equipado com um auto injetor modelo AOC-20i (Shimadzu) e software GCMS solution Ver. 2 (Shimadzu, Italy).

- As análises de Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010 acoplado ao detector seletivo de massas GCMS-QP2010 Plus equipado com um auto injetor modelo AOC-20i (Shimadzu), acoplado com um modulador criogênico (utilizando N₂ líquido) desenvolvido em laboratório e softwares GCMS solution versão 2 (Shimadzu, Italy) e GC Image software, versão 2.1 (GC Image, LLC, Lincoln, NE). A análise por Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente (CG×CG) foi realizada no Laboratório de Cromatografia Gasosa, na Universidade de Campinas (UNICAMP), sob orientação do prof. Dr. Fabio Augusto.

- As análises de Espectroscopia no Infravermelho foram realizadas no equipamento Thermo Nicolet 6700 FT-IR com ATR (Attenuated Total internal Reflection) de diamante. As análises foram realizadas no laboratório de Instrumentação do Departamento de Química da Universidade de Nevada, Reno.

- As análises de Espectrometria de Massas foram realizadas utilizando Espectrômetro de massas Waters Micromass ZQ, com analisador quadrupolo, equipado com uma fonte de ionização por spray de elétrons (Electrospray), aquisição em modo positivo, através da inserção direta. As análises foram realizadas no laboratório de Instrumentação do Departamento de Química da Universidade de Nevada, Reno.

- As rotações ópticas específicas foram obtidas em polarímetro Jasco modelo P-2000. As análises foram realizadas no laboratório de Instrumentação do Departamento de Química da Universidade de Nevada, Reno.

- Os espectros de ressonância magnética nuclear 1D e 2D, foram registradas em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Bruker DPX 200 e Avance 400, operando a 4,7 e 9,4 Tesla, observando os núcleos de ^1H a 200 e 400 MHz, respectivamente, e a 50 e 100 MHz para ^{13}C . As análises de ressonância magnética nuclear 1D para os compostos sintetizados, foram registradas em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Varian VNMR 400 e 500, operando a 9,4 e 11,7 Tesla, observando os núcleos de ^1H a 400 e 500 MHz, e de ^{13}C a 100 e 125 MHz, respectivamente. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado e/ou metanol deuterado, utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ) e são dados em relação ao TMS com $\delta = 0$ ppm, as constante de acoplamento (J) foram registradas em Hertz e a multiplicidade dos sinais foi indicada como segue: s = simpleto, sl = simpleto largo, d = duplete, t = triplete, q = quarteto e m = multiplete.

3.3 ESTUDO FITOQUÍMICO

3.3.1 Coleta e Identificação Botânica

A coleta das partes aéreas de *Manekia obtusa* (folhas e galhos) (Figura 16A) foi realizada em julho de 2009 no campus da Universidade de São Paulo (23° 33' 46.883" S; 46° 43' 39.400" O; 748m), São Paulo, SP, Brasil. A coleta das folhas, galhos e raízes de *Piper cubataonum* (Figura 16B) foi realizada em março de 2011, na Serra da Cantareira, Floresta Atlântica (23° 21' 55.098" S; 46° 36' 56.977" O; 822m), em São Paulo, SP, Brasil. As espécies foram coletadas pelo prof. Dr. Massuo Jorge Kato e identificadas pela Dra. Elsie Franklin Guimarães. Uma exsicata de cada espécie está depositada no herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro sob o código Kato-838 (para *Manekia obtusa*) e K-1172 (para *Piper cubataonum*).

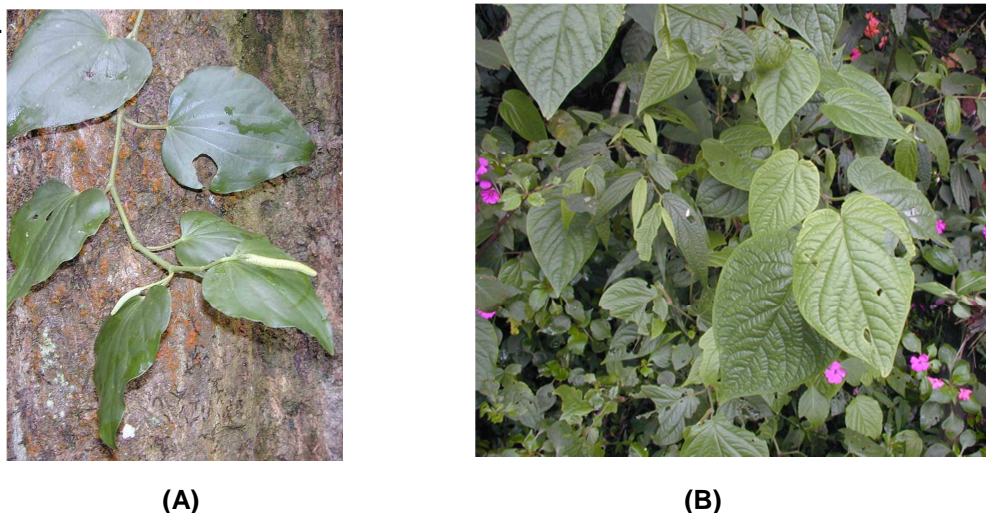


Figura 16. (A) *Manekia obtusa* e (B) *Piper cubataonum*.

3.3.2 Extração e identificação dos constituintes do óleo essencial de *M. obtusa* e *P. cubataonum*

As partes aéreas secas de *Manekia obtusa* (74 g em 1 L de água destilada) e as folhas e galhos secos de *Piper cubataonum* (30 g em 400 mL de água destilada) foram submetidas à hidrodestilação, separadamente, em aparelho de Clevenger modificado por 4 h, em duplicata. Após a extração, o óleo essencial foi coletado e extraído do hidrolato (3 x 3 mL) com hexano ultra puro. A remoção do excesso de água foi feita empregando uma pipeta Pasteur, em seguida o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro. Os rendimentos dos óleos foram calculados relacionando-se a massa de óleo obtida e a massa de material vegetal seco utilizado na extração (% m/m).

Na análise por Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) a amostra foi diluída a 1% (m/v) em hexano e foi caracterizada utilizando as seguintes condições de análises: coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (5% difenil + 95% dimetil polisiloxano, com 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Como gás de arraste foi empregado hélio com vazão de 1,02 mL min⁻¹, em modo *split* 1:10, estando o injetor à 250 °C e o sistema de ionização 70 eV. Injetou-se 1 μ L de amostra e empregou-se na análise a seguinte rampa de aquecimento: temperatura inicial 60 °C (0') até 250 °C, com aquecimento de 3 °C/minuto.

Para a análise de CGxCG, a amostra foi diluída a 1% (m/v) em diclorometano, sendo caracterizada utilizando coluna capilar de sílica fundida na primeira dimensão HP-5 (5% difenil + 95% dimetil polisiloxano, com 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) e na segunda dimensão foi utilizada coluna polar DB-Wax (polietilenoglicol-PEG, com 1,0 m x 0,10 mm x 0,10 μ m). Como gás de arraste foi empregado hidrogênio, com vazão de 0,6 mL min⁻¹, em modo *split* 1:50, estando o injetor à 250 °C. Injetou-se 1 μ L de amostra e empregou-

se na análise a seguinte rampa de aquecimento: temperatura inicial 60 °C (0') até 250 °C, com aquecimento de 3 °C/minuto. Foi aplicado o período de modulação de 6 s. Os parâmetros de massas incluem o intervalo de massas de m/z 40-350, temperatura na linha de transferência de 250 °C, temperatura na fonte de íons de 280 °C e o sistema de ionização de impacto de elétrons a 70 eV. Os dados foram adquiridos pelo GCMS Real Time Analysis (GCMS Solutions, Shimadzu Corp., Kyoto, JP) e processados utilizando GC Image software, versão 2.1 (GC Image, LLC, Lincoln, NE).

Os valores de índices de retenção experimental (IR_{exp}) foram calculados utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (demonstrada abaixo), determinados através da adição às amostras de série homóloga de hidrocarbonetos lineares saturados contendo de 8 (oito) a 24 (vinte e quatro) átomos de carbono.

$$IR = 100 \times z + 100 \times \left(\frac{t_R(x) - t_R(z)}{t_R(z+1) - t_R(z)} \right)$$

Sendo:

z = número de carbonos do hidrocarboneto padrão;

$t_R(x)$ = tempo de retenção do constituinte sob análise, cujo valor encontra-se entre $t_R(z)$ e $t_R(z+1)$;

$t_R(z)$ = tempo de retenção do hidrocarboneto padrão com z carbonos;

$t_R(z + 1)$ = tempo de retenção do hidrocarboneto padrão com $z + 1$ carbonos.

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados através da comparação dos índices de retenção e espectros de massas com os espectros existentes na biblioteca de massas NIST 02 (NIST, Gaithersburg, USA) e baseados pela análise visual comparativa com os espectros de massas, fazendo-se uso da literatura Adams (2007) e as bases de dados Pherobase e Nist WebBook.

A quantificação foi baseada na área dos sinais para CG-EM e no volume dos sinais para CG×CG. Para análise, foram considerados semelhantes os constituintes com valores de similaridade espectral com Match acima de 800, obtidos pelo software NIST.

3.3.3 Obtenção dos extratos

Os materiais vegetais foram submetidos a uma pré-secagem à sombra em temperatura ambiente, seguido de secagem em estufa de ar circulante a 40 °C, sendo em seguida triturados em moinho. Em seguida, estes foram submetidos individualmente à extração a frio (maceração). No estudo de *Manekia obtusa* as partes aéreas foram extraídas com solventes de ordem crescente de polaridade: éter de petróleo (EP),

diclorometano (DCM) e etanol 70% (ET). No estudo de *Piper cubataonum* as folhas, galhos e raízes foram extraídos separadamente com metanol (MeOH). Para a extração houve renovação do solvente em intervalos de 24 horas, até ser observado esgotamento da extração do material vegetal.

Os extratos éter de petróleo, diclorometânico e metanólico foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, à temperatura de 40 °C e armazenados em dessecador. O extrato etanólico foi previamente concentrado em evaporador rotativo e posteriormente liofilizado. Os rendimentos obtidos encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Rendimento dos extratos das espécies *Manekia obtusa* e *Piper cubataonum*.

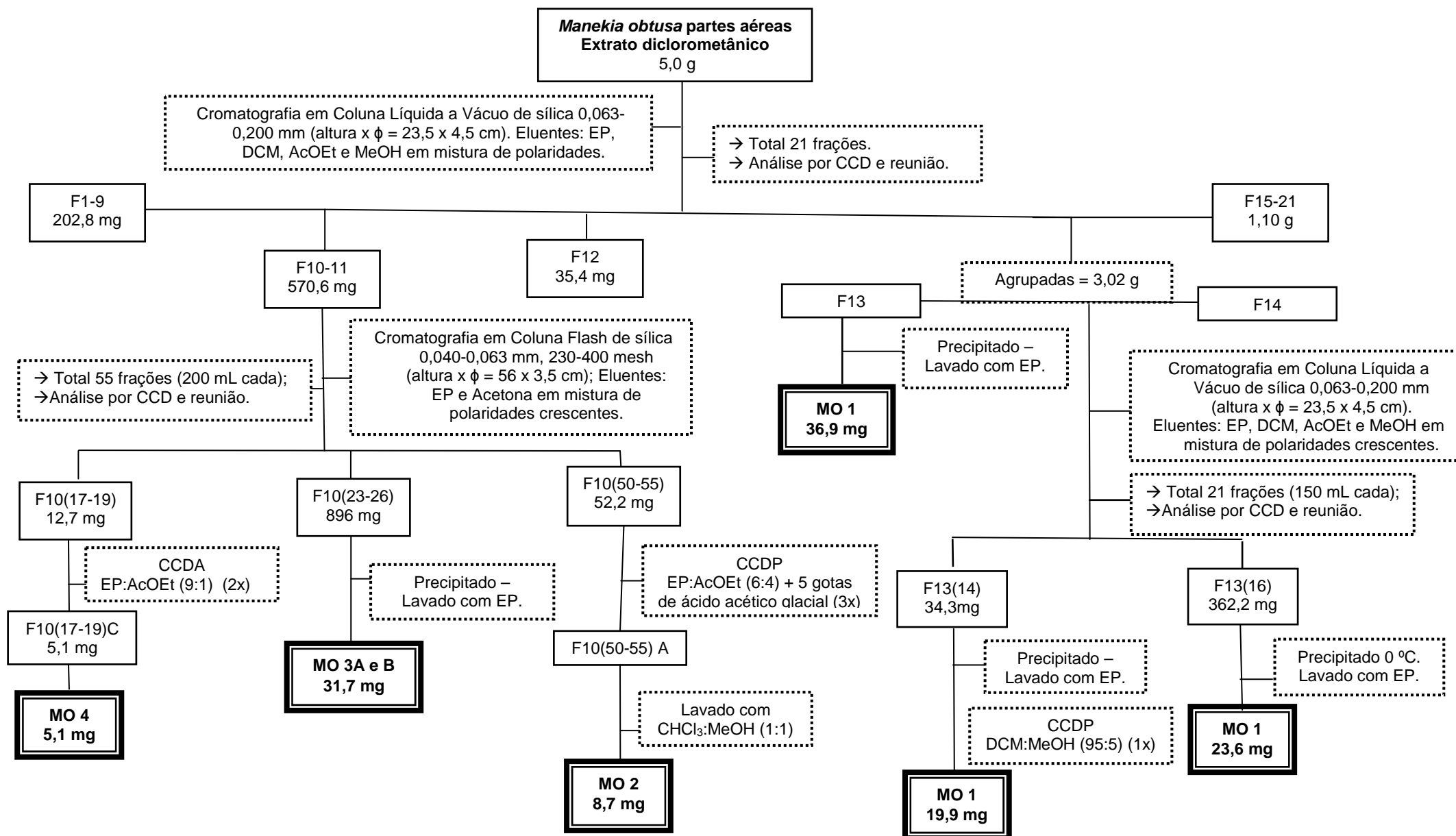
	Parte da planta	Massa (g)	Massa do extrato (g) e rendimento (%)			
			Éter de petróleo	Diclorometano	Etanólico 70%	Metanol
<i>Manekia obtusa</i>	Partes aéreas (PA)	2000	14,5 (0,7)	37,2 (1,9)	110,6 (5,5)	-
<i>Piper cubataonum</i>	Folhas (F)	420,9	-	-	-	45,8 (10,9)
	Galhos (G)	305,9	-	-	-	28,3 (9,2)
	Raízes (R)	139,1	-	-	-	9,2 (6,6)

3.3.4 Fracionamento do extrato diclorometânico das partes aéreas de *Manekia obtusa*

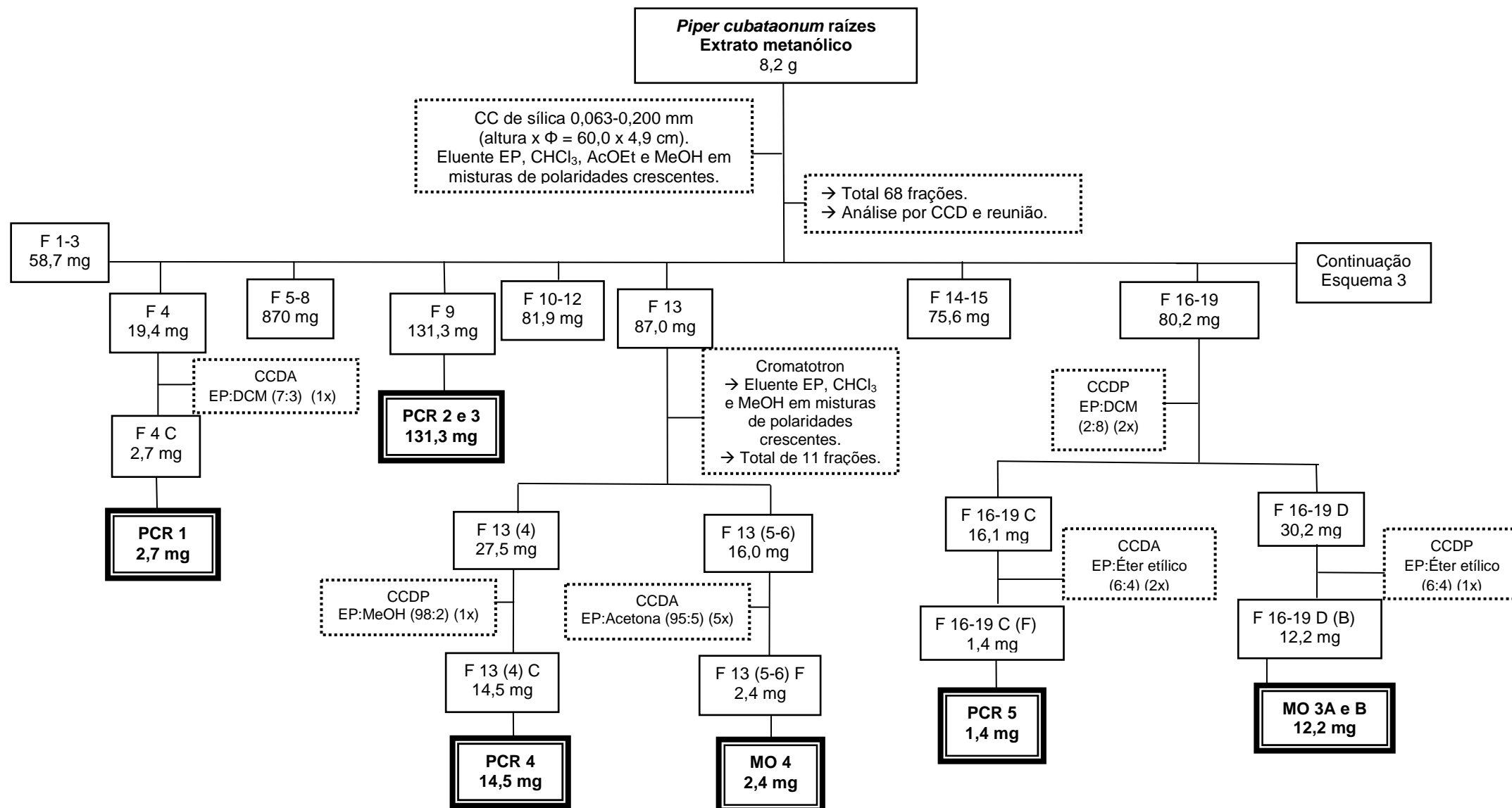
Uma parte do extrato diclorometânico (5,0 g) foi submetido ao fracionamento cromatográfico em coluna líquida a vácuo (CLV, altura x ϕ = 23,5 x 4,5 cm) de gel de sílica (0,063-0,200), utilizando gradiente de eluição com os seguintes solventes: EP, DCM, AcOEt e MeOH, obtendo-se 21 frações de 250 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCD e as semelhantes foram agrupadas. As frações que apresentaram perfil interessante e quantidades suficientes foram purificadas, conforme visualizadas no Esquema 1.

3.3.5 Fracionamento do extrato metanólico das raízes de *Piper cubataonum*

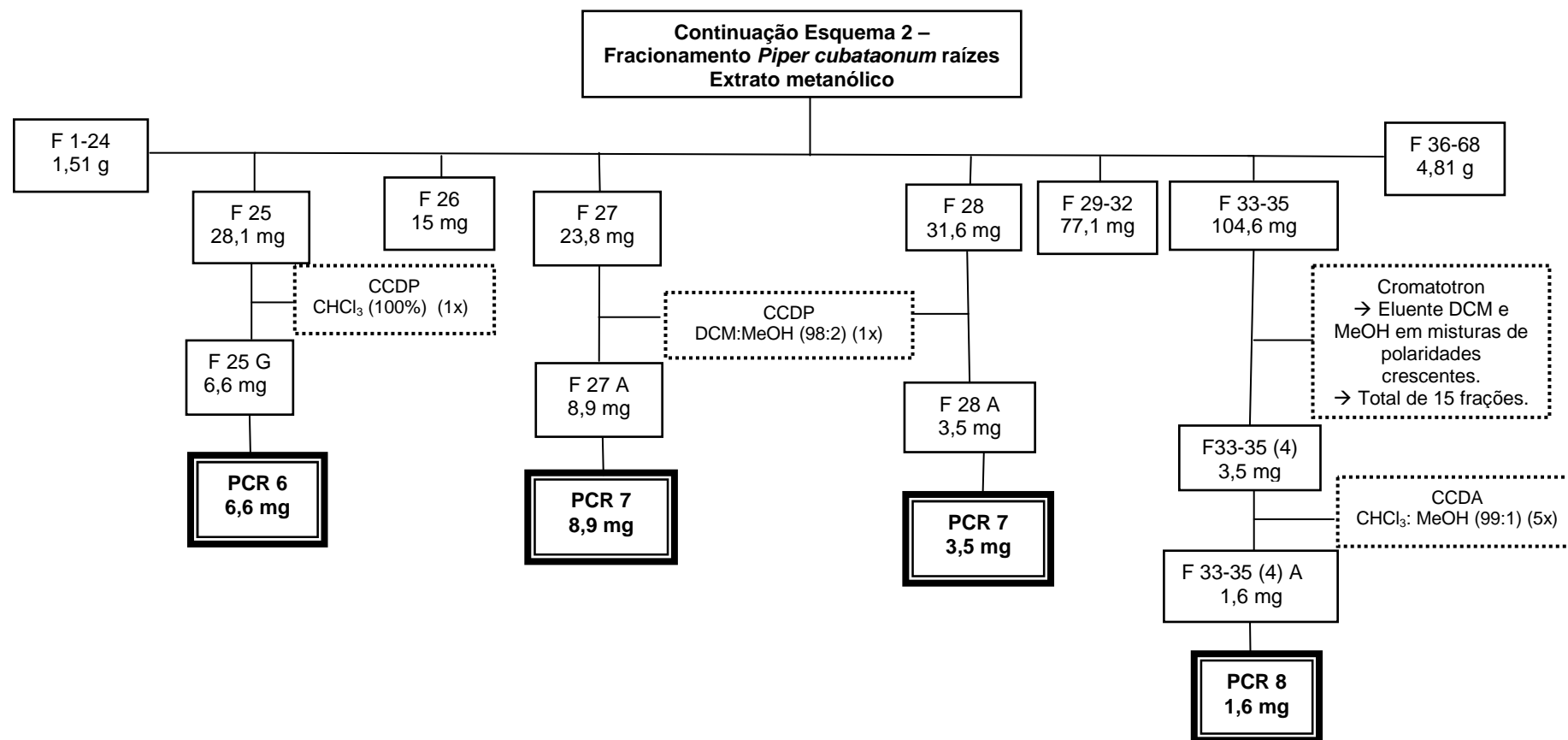
Uma parte do extrato metanólico (8,2 g) foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna (altura x Φ = 60,0 x 4,9 cm) de gel de sílica (0,063-0,200), utilizando gradiente de eluição com os solventes: EP, CHCl_3 , AcOEt e MeOH, obtendo-se 68 frações. As frações obtidas foram analisadas por CCD e as semelhantes foram agrupadas. As frações que apresentaram perfil interessante e quantidades suficientes foram purificadas, conforme Esquema 2 e 3.



Esquema 1. Purificação das partes aéreas de *Manekia obtusa*.



Esquema 2. Purificação das raízes de *Piper cubataonum*.



3.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As amostras (óleos essenciais, extratos e aegolina) foram avaliadas quanto à sua atividade antimicrobiana contra onze microrganismos. Os testes foram realizados na Divisão de Microbiologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) - UNICAMP tendo como colaboradora a Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte.

Os microrganismos utilizados foram: *Bacillus subtilis* (TCC 2576), *Escherichia coli* (TCC 0547), *Staphylococcus aureus* (TCC 2740), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus* (TCC 2692), *Rhodococcus equi* (TCC 0541), *Salmonella choleraesuis* (TCC 4296), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388), *Enterococcus faecium* (TCC 5079), *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) e *Candida albicans* (TCC 776). Esses microrganismos foram obtidos da “American Type Collection Culture” (ATCC) e “Tropical Culture Collection (TCC) e são sistematicamente usados como parte de um programa de triagem direcionado para a identificação de produtos naturais com potencial a ser explorado como novas drogas antimicrobianas.

A atividade antimicrobiana foi avaliada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras, através do método da microdiluição (ELLOF, 1998). Para isto, em uma microplaca esterilizada de 96 poços foram depositados 100 µL de caldo Mueller-Hinton e 50 µL da amostra a ser testada, nas concentrações de 1,0 - 0,016 mg mL⁻¹. Em seguida foram adicionados 100 µL de uma suspensão dos microrganismos, de crescimento recente, cuja turvação foi comparada à escala de McFarland nº 0,5 e diluídos para concentração final de 10⁴ células mL⁻¹. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Após este período foram acrescentados 50 µL da solução aquosa de cloreto de trifênil tetrazólio (CTT) a 0,5%, e a placa foi re-incubada por 3 h na referida temperatura. A CIM foi definida como a menor concentração da amostra capaz de impedir o aparecimento de coloração vermelha.

Foram incluídos nos testes, controles dos medicamentos antibióticos nistatina (para *Candida albicans*) e cloranfenicol (bactérias) (Merck) dentro da faixa de concentração de 0,25 - 0,002 mg mL⁻¹, bem como controles de esterilidade do meio de cultura e do crescimento do microrganismo.

3.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA

Estes testes foram realizados na Divisão de Farmacologia e Toxicologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) - UNICAMP, tendo como colaborador o Dr. João Ernesto de Carvalho.

A avaliação da atividade anticancer de cada amostra (óleos essenciais, extratos e aegolina) foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida pelo “National Cancer Institute” - NCI-USA, utilizando dez linhagens de células tumorais humanas: linhagens K562 (leucemia), U251 (glioma, SNC), MCF-7 (mama), NCI-ADR (ovário com fenótipo de resistência a múltiplas drogas), UACC-62 (melanoma), NCI-H460 (pulmão), PC-3 (próstata), HT-29 (cólon), OVCAR-3 (ovário) e 786-0 (rim) e célula vero (célula normal, rim).

Placas de 96 poços, com uma suspensão com densidade de inoculação entre $3,0 \times 10^4$ e 7×10^4 células/mL com meio RPMI/SFB (RPMI 1640 (Gibco®, NY, USA), 5% de soro fetal bovino inativado (SFB) (Gibco®)) com $50 \mu\text{L mL}^{-1}$ de gentamicina (Schering Plus®) foram incubadas 24 h a 37 °C em atmosfera úmida com 5% CO₂. Após este período foi adicionado 100 μL /compartimento da amostra nas concentrações de 0,25; 2,5; 25 e 250 $\mu\text{g/mL}$. Como controle positivo foi padronizado o quimioterápico doxorrubicina nas mesmas concentrações das amostras testes.

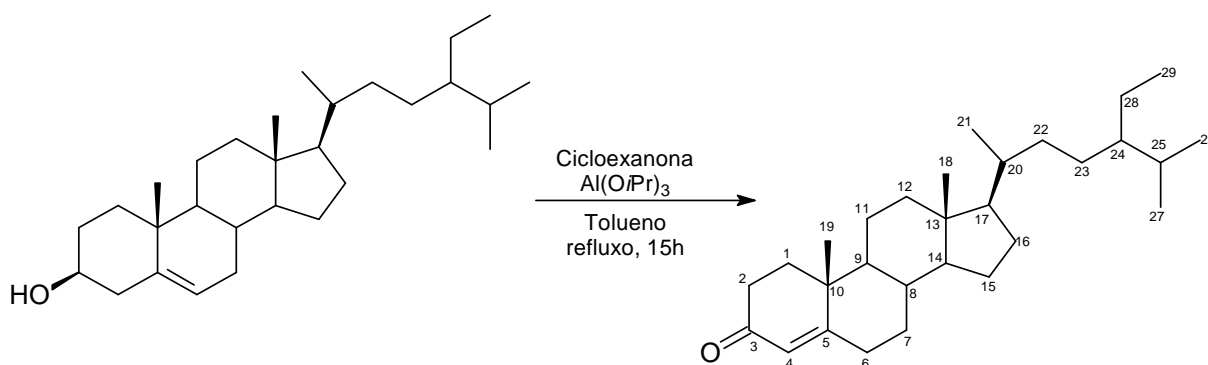
Após um período de incubação de 48 h, as células foram fixadas através da adição de 50 μL /compartimento de ácido tricloroacético (TCA) (50%) (Merck®, Darmstadt, Germany) e incubadas por 1 h a 4 °C. Após este período, o ácido tricloroacético foi removido por aspiração e a seguir as placas foram lavadas com água corrente para a remoção dos resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários, sendo mantidas à temperatura ambiente até a secagem completa. As placas foram coradas com 50 μL /compartimento de sulforrodamina B (SRB) (Sigma Chemical Co®, St Louis, MO, USA) 0,4% dissolvido em ácido acético a 1%, por 30 minutos a 4 °C. O excesso de SRB foi removido das placas após 10 minutos através de lavagem com ácido acético a 1% e secas a temperatura ambiente. Finalmente, o corante ligado as proteínas celulares foi solubilizado com a adição de 150 μL de Trizma Base [(Sigma Chemical Co®, St Louis, MO, USA), (10 μM , pH 10,5) por 5 minutos em ultrasson. A leitura óptica foi realizada por leitor de microplacas (elisa) em $\lambda = 540 \text{ nm}$ no instrumento Labsystems Multiskan MCC/340 (SKEHAN *et al.*, 1990; MONKS *et al.*, 1991).

Com os dados obtidos, foram construídos gráficos relacionando a porcentagem de inibição de crescimento com a concentração da substância teste. Através da regressão sigmoide das curvas obtidas com as médias da porcentagem de crescimento, foram calculados os valores TGI (*Total Growth Inhibition*).

3.6 METODOLOGIA DE SÍNTESE

A síntese dos constituintes estigmast-4-en-3-ona e (S)-aegelina, isolados de *M. obtusa*, e do análogo da aegelina foi realizada durante o período de doutorado sanduíche no Laboratório de Síntese Orgânica, na Universidade de Nevada, Reno, EUA, sob orientação do prof. Dr. Christopher Jeffrey.

3.6.1 Síntese de estigmast-4-en-3-ona



Esquema 4. Esquema da síntese de estigmast-4-en-3-ona.

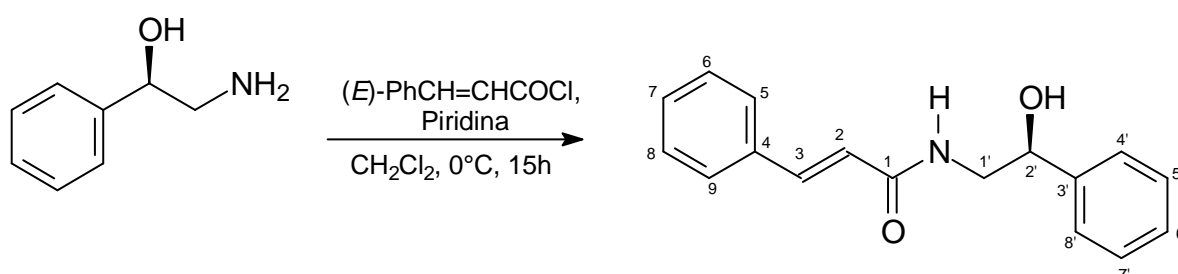
Em um balão de 500 mL com junta esmerilhada equipado com Dean Stark e condensador de refluxo, sob atmosfera inerte de N_2 , foram adicionados 10 g de β -sitosterol (24,11 mmol) ($\geq 70\%$ - Sigma, previamente recristalizado em acetona), 70 mL de cicloexanona e 200 mL de tolueno. Em seguida adicionaram-se 7,38 g de triisopropóxido de alumínio (36,17 mmol) e a solução foi deixada sob agitação magnética e refluxo por 15 h. Após este período, a mistura foi resfriada a temperatura ambiente, seguida pela adição lenta de 30 mL de água e 60 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico 10%. Em seguida, a camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com tolueno (3 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (3 x 50 mL), secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida (Esquema 4) (ASKINAZI *et al.*, 1985; LICHTFOUSE; ALBRECHT, 1994).

O produto obtido foi submetido à destilação a vácuo a temperatura de 250 °C para retirada do excesso de cicloexanona. Em seguida, o produto foi purificado através de recristalização, utilizando 85 mL de metanol, obtendo-se 3,83 g de um sólido cristalino branco (38,5%).

RMN de ^1H (500 MHz - CDCl_3/TMS) δ (ppm): 0,71 (s; 3H; H-18), 0,81 (d; 6,8; 3H; H-26), 0,83 (d; 6,8; H-27), 0,84 (t; 7,4; 3H; H-29), 0,91 (d; 6,5; 3H; H-21), 1,18 (s; 3H; H-19), 5,71 (s; 1H; H-4) (pg. 194).

RMN de ^{13}C (125 MHz - CDCl_3/TMS) δ (ppm): 12,0 (C-29), 17,4 (C-19), 18,7 (C-21), 19,0 (C-27), 19,8 (C-26), 21,0 (C-11), 23,1 (C-28), 24,2 (C-15), 26,1 (C-23), 28,2 (C-16), 29,1 (C-25), 32,0 (C-7), 32,9 (C-6), 33,9 (C-2), 34,0 (C-22), 35,6 (C-1), 35,7 (C-8), 36,1 (C-20), 38,6 (C-10), 39,6 (C-12), 42,4 (C-13), 45,8 (C-24), 53,8 (C-9), 55,9 (C-14), 56,0 (C-17), 123,7 (C-4), 171,5 (C-5), 199,5 (C-3) (pg. 194).

3.6.2 Síntese de (*R*)-6'-desmetoxi aegolina



Esquema 5. Esquema da síntese de (*R*)-6'-desmetoxi aegolina.

Em um balão de 100 mL com junta esmerilhada sob atmosfera inerte de N_2 , foram adicionados 0,5 g de *R*-(-)-2-amino-1-feniletanol (3,64 mmol) em 36 mL de diclorometano anidro e 11 mL de piridina anidra, e misturou-se sob agitação magnética a 0 °C. Em seguida, adicionou-se gota a gota uma solução de 0,67 g de cloreto de cinamoíla (4,01 mmol) em 2 mL de diclorometano anidro. A reação foi mantida sob agitação magnética na mesma temperatura por 15 h.

Após este período, foi adicionado água destilada (29 mL), a camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 18 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com ácido clorídrico 10% (18 mL), com solução salina de NaCl (18 mL) e secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida (Esquema 5) (CHO; KANG; SHIN, 2002).

O produto obtido foi purificado através de recristalização, utilizando 30 mL de etanol: água (8:2) (LEE *et al.*, 2007), obtendo-se 0,373 g de um sólido cristalino branco (38,3%).

RMN de ^1H (500 MHz – $\text{CDCl}_3+\text{MeOD}/\text{TMS}$) δ (ppm): 3,41 (dd; 13,9; 8,2; 1H; H-1'a), 3,73 (dd; 13,9; 3,7; 1H; H-1'b), 4,85 (dd; 8,2; 3,7; 1H; H-2'), 6,47 (d; 15,8; 1H; H-2); 7,38 (m;

8H; H-5-9, H-5'-7'*); 7,49 (m; 2H; H4'-8'*), 7,60 (d; 15,8; 1H; H-3) *podem estar trocados (pg. 195).

RMN de ^{13}C (125 MHz - $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}/\text{TMS}$) δ (ppm): 47,1 (C-1'), 72,7 (C-2'), 120,2 (C-2), 125,8 (C-4'; C-8')*, 127,7 (C-7)**, 127,8 (C-5'; C-7')*, 128,4 (C-5;C-9)*, 128,7 (C-6; C-8)*, 129,7 (C-6')**, 134,6 (C-3')***, 141,2 (C-3), 141,9 (C-4)***, 167,4 (C-1). Carbonos marcados com o mesmo símbolo podem estar trocados (pg. 195).

IV (ATR-FTIR)= 1660, 1619, 1223, 1052, 748, 697 cm^{-1} .

m/z (ESI +) = $[\text{M} + 23] = 289,79$; $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{Na}$.

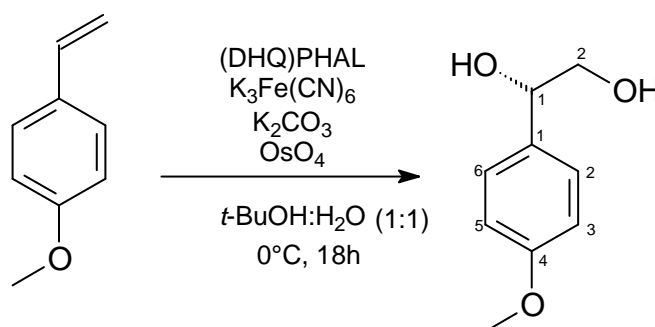
$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -30,93$ (conc. 0,9; CHCl_3).

3.6.3 Síntese da (S)-aegelina

3.6.3.1 Rota 1

A metodologia utilizada para a rota 1 da síntese da (S)-aegelina foi baseada no método descrito por Sadyandy; Fernandes; Kumar (2005).

3.6.3.1.1 (S)-1-(4-metoxifenil)-1,2-etanodiol.



Esquema 6. Esquema da reação de dihidroxilação assimétrica de Sharpless.

Em um balão de 500 mL com junta esmerilhada e sob atmosfera inerte de N_2 , 33,12 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (100,58 mmol), 13,9 g de K_2CO_3 (100,58 mmol) e 0,2617 g de $(\text{DHQ})_2\text{PHAL}$ (0,3359 mmol; 1% mol) foram adicionados em 300 mL de *t*-butanol: água (1:1). Em seguida, adicionaram-se 4,26 mL de uma solução de tetróxido de ósmio 1% (0,5% mol) em água destilada a 0 °C e a mistura foi deixada sob agitação magnética por 5 minutos. Após, adicionaram-se 4,5 g de 4-metoxi-etenofenila (33,53 mmol) e a reação foi mantida sob agitação magnética na mesma temperatura por 18 h (Esquema 6).

Após este período, foi adicionado à mistura 4,5 g de Na_2SO_3 e agitou-se por 1 h. Em seguida, procedeu-se a separação da fase orgânica e a fase aquosa foi extraída com

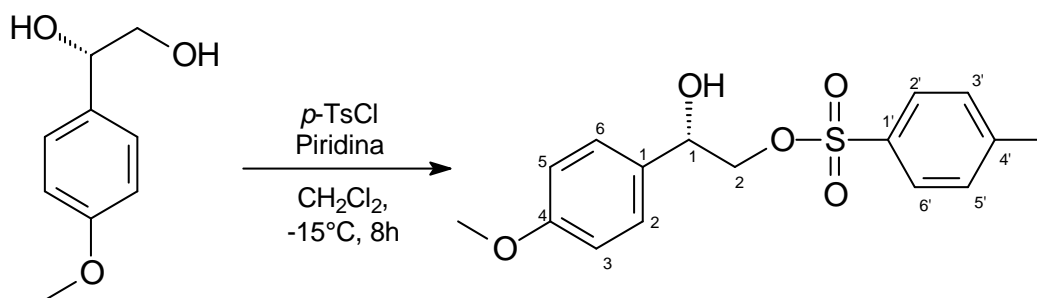
acetato de etila (3 x 150 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução salina de NaCl (300 mL), secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Obteve-se 5,46 g de um sólido branco (96,8 %).

RMN de ^1H (500 MHz – MeOD/TMS) δ (ppm): 3,59 (dd; 11,4; 8,4; 1H; H-2a), 3,66 (dd; 11,4; 3,5; 1H; H-2b), 4,70 (dd; 8,4; 3,5; 1H; H-1), 6,87 (d; 8,7; 2H; H-3; H-5), 7,26 (d; 8,7; 2H; H-2; H-6) (pg. 196).

RMN de ^{13}C (125 MHz - MeOD/TMS) δ (ppm): 54,2 (OMe), 67,3 (C-2), 74,1 (C-1), 113,2 (C-3; C-5), 127,2 (C-2; C-6), 133,9 (C-1), 159,2 (C-4) (pg. 196).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +1,05$ (conc. 6,9; MeOH).

3.6.3.1.2 (S)-2-(O-tosil)-1-(4-metoxifenil)etanol.



Esquema 7. Esquema da reação de tosilação.

Em um balão de 500 mL com junta esmerilhada, a temperatura ambiente, sob agitação magnética e atmosfera inerte de N_2 , foram adicionados 5,41 g (32,2 mmol) do produto diidroxilado dissolvidos em 270 mL de diclorometano anidro, seguida da adição de 3,9 mL de piridina anidra (48,4 mmol) por 15 minutos. Em seguida, a mistura reacional foi resfriada a -15°C e adicionaram-se 6,44 g de cloreto de *p*-toluenossulfonila (33,8 mmol), divididas em três partes e adicionadas a cada 30 minutos. A reação foi mantida sob agitação magnética a -15°C por 8 h (Esquema 7).

Após este período, deixou-se a mistura reacional a temperatura ambiente e foi adicionado 500 mL de acetato de etila, 100 mL de solução aquosa de sulfato de cobre 10% e agitou-se por 30 minutos. Em seguida, procedeu-se a separação da fase orgânica e a fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 250 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução salina de NaCl (500 mL), secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida.

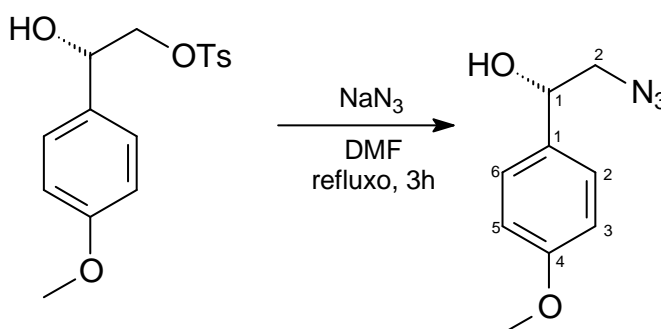
O produto obtido foi purificado através de cromatografia em coluna de gel de sílica através do equipamento Biotage®, utilizando como eluentes clorofórmio e metanol em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 1 g de um óleo amarelo (9,6%).

RMN de ^1H (500 MHz – CDCl_3/TMS) δ (ppm): 2,44 (s; 3H; CH_3), 3,79 (s; 3H; OCH_3), 4,03 (dd; 10,4; 8,5; 1H; H-2a), 4,11 (dd; 10,4; 3,4; 1H; H-2b), 4,93 (dd; 8,5; 3,4; 1H; H-1), 6,86 (d; 8,7; 2H; H-3; H-5), 7,22 (d; 8,6; 2H; H-3'; H-5'), 7,33 (d; 8,7; 2H; H-2; H-6), 7,77 (d; 8,6; 2H; H-2'; H-6') (pg. 197).

RMN de ^{13}C (125 MHz - CDCl_3/TMS) δ (ppm): 21,6 (CH_3), 55,3 (OMe), 71,4 (C-2), 74,3 (C-1), 114,0 (C-3; C-5), 127,5 (C-2; C-6), 127,9 (C-3'; C-5'), 129,9 (C-2'; C-6'), 130,6 (C-4'), 132,7 (C-1), 145,0 (C-1'), 159,7 (C-4) (pg. 197).

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +21,46$ (conc. 3,8; CHCl_3)

3.6.3.1.3 (S)-2-azida-1-(4-metoxifenil)etanol.



Esquema 8. Esquema da síntese do produto azida.

Em um balão de 50 mL, com junta esmerilhada equipado com condensador de refluxo sob atmosfera inerte de N_2 , foi adicionado 0,95 g do produto tosilado (2,94 mmol), 19 mL de dimetilformamida anidra e 1,15 g de azida de sódio (17,69 mmol), os quais foram deixados sob agitação magnética e refluxo por 3 h (Esquema 8).

Após este período, deixou-se a mistura reacional à temperatura ambiente e foi adicionado 40 mL de água destilada e 40 mL de acetato de etila. Em seguida, procedeu-se a separação da fase orgânica e a fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 40 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água destilada (100 mL), solução salina de NaCl (100 mL), secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida, obteve-se 0,630 g de um óleo amarelo impuro.

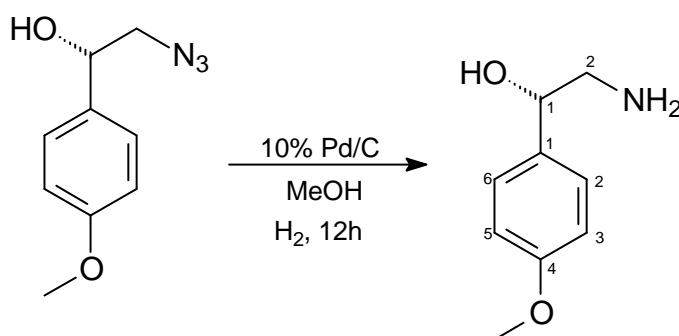
RMN de ^1H (500 MHz – CDCl_3/TMS) δ (ppm): 3,40 (dd; 12,5; 3,9; 1H; H-2a), 3,47 (dd; 12,5; 8,3; 1H; H-2b), 3,81 (s; 3H; OCH_3), 4,82 (dd; 8,3; 3,9; 1H; H-1), 6,90 (d; 8,8; 2H; H-3; H-5), 7,29 (d; 8,8; 2H; H-2; H-6) (pg. 198).

RMN de ^{13}C (125 MHz - CDCl_3/TMS) δ (ppm): 55,3 (OMe), 58,1 (C-2), 73,0 (C-1), 114,1 (C-3; C-5), 127,2 (C-2; C-6), 132,7 (C-1), 159,6 (C-4) (pg. 198).

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +25,73$ (conc. 1,0; CHCl_3)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} \text{ literatura} = +114,3$ (conc. 1,3; CHCl_3) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.6.3.1.4 (S)-2-amino-1-(4-metoxifenil)etanol.



Esquema 9. Esquema da redução da azida para amina primária.

Em um balão de 50 mL, com junta esmerilhada sob atmosfera de H_2 , foi adicionado 0,62 g do produto azida (3,21 mmol), 15 mL de metanol e 0,0498 g do catalisador 10% Pd/C, os quais foram deixados agitando magneticamente a temperatura ambiente por 12 h (Esquema 9).

Após este período, a mistura reacional foi filtrada a vácuo com uma camada de celite para a remoção do catalisador. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, ressuspenso em diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e concentrado novamente sob pressão reduzida. Obteve-se 0,509 g de um óleo amarelo (94,9%).

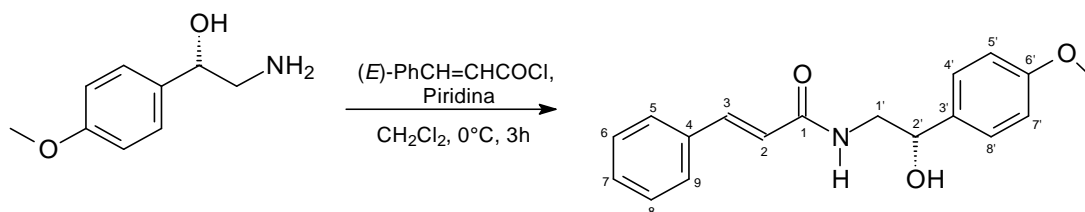
RMN de 1H (500 MHz – MeOD/TMS) δ (ppm): 2,80 (dd; 12,6; 7,9; 1H; H-2a), 2,98 (dd; 12,6; 4,0; 1H; H-2b), 3,80 (s; 3H; OCH₃), 4,58 (dd; 7,9; 4,0; 1H; H-1), 6,90 (d; 8,7; 2H; H-3; H-5), 7,28 (d; 8,7; 2H; H-2; H-6) (pg. 199).

RMN de ^{13}C (125 MHz - MeOD/TMS) δ (ppm): 48,6 (C-2), 54,3 (OMe), 74,1 (C-1), 113,4 (C-3; C-5), 126,9 (C-2; C-6), 134,8 (C-1), 159,2 (C-4) (pg. 199).

$[\alpha]_D^{23} = +12,73$ (conc. 0,9; MeOH).

$[\alpha]_D^{25} = +37,8$ (conc. 1,1, EtOH) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.6.3.1.5 (S)-aegolina.



Esquema 10. Esquema da etapa final da síntese de (S)-aegolina.

Em um balão de 100 mL com junta esmerilhada sob atmosfera inerte de N₂, foram adicionados 0,457 g de S-(+)-2-amino-1-(4-metoxifenil)etanol (2,73 mmol) em 30 mL de diclorometano anidro e 8,2 mL de piridina anidra, e misturou-se sob agitação magnética a 0 °C. Em seguida, adicionou-se gota a gota uma solução de 0,501 g de cloreto de cinamoíla (3,01 mmol) dissolvidos em 10 mL de diclorometano anidro. A reação foi mantida sob agitação magnética na mesma temperatura por 3 h (Esquema 10) (CHO; KANG; SHIN, 2002).

Após este período, foi adicionado água destilada (21 mL), a camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 15 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa de ácido clorídrico 10% (10 mL), com solução salina de NaCl (10 mL) e secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida.

O produto obtido foi purificado através de cromatografia em coluna de gel de sílica através do equipamento Biotage®, utilizando como eluentes hexano e acetato de etila em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 0,106 g de um sólido amarelo (13,1%).

RMN de ¹H (500 MHz – CDCl₃+MeOD/TMS) δ (ppm): 3,42 (dd; 13,9; 8,2; 1H; H-1'a), 3,68 (dd; 13,9; 3,9; 1H; H-1'b), 3,81 (s; 3H; OCH₃), 4,81 (dd; 8,2; 3,9; 1H; H-2'), 6,53 (d; 15,7; 1H; H-2), 6,90 (d; 8,7; 2H; H-5'; H-7'), 7,33 (d; 8,7; 2H; H-4'; H-8'), 7,37 (m; 3H; H-6-8), 7,53 (m; 2H; H-5; H-9), 7,59 (d; 15,7; 1H; H-3) (pg. 200).

RMN de ¹³C (125 MHz - CDCl₃+MeOD/TMS) δ (ppm): 47,2 (C-1'), 55,1 (OMe), 72,4 (C-2'), 113,7 (C-5'; C-7'), 120,3 (C-2), 127,1 (C-4'; C-8'), 127,7 (C-5; C-9), 128,7 (C-6; C-8), 129,7 (C-7), 134,2 (C-3'), 134,7 (C-4), 141,1 (C-3), 159,1 (C-6'), 167,6 (C-1) (pg. 200).

IV (ATR-FTIR) = 3277, 1657, 1619, 1515, 1246, 1023, 762, 661 cm⁻¹.

m/z (ESI +) = [M + 23] = 319,85; C₁₈H₁₉NO₃Na.

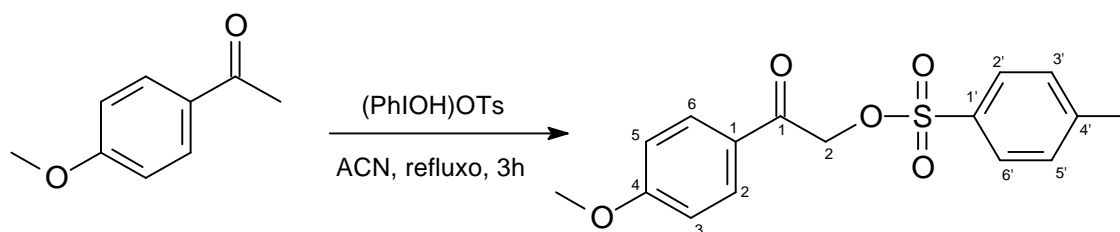
[α]_D²³ = +15,69 (conc. 0,3; CHCl₃).

[α]_D²⁵ literatura = +34,1 (conc. 0,4; CHCl₃) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.6.3.2 Rota 2

A metodologia utilizada para a rota 2 da síntese da (S)-aegelina foi baseada no método descrito por Peach *et al.* (2006), Lee *et al.* (2007) e Lee; Kwak; Lee (2009).

3.6.3.2.1 α -tosiloxi-*p*-metoxiacetofenona.



Esquema 11. Esquema da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.

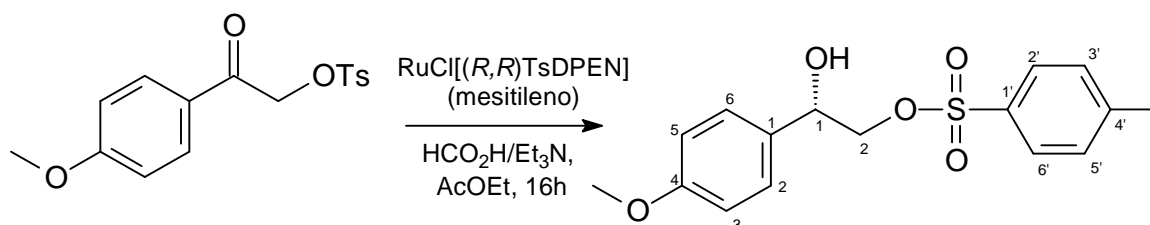
Em um balão de 500 mL com junta esmerilhada, com condensador de refluxo sob atmosfera inerte de N_2 , foi adicionado 5 g de 4-metoxiacetofenona (33,29 mmol) dissolvida em 100 mL de acetonitrila e 15,31 g de [hidroxi(tosiloxi)iodo]benzeno (39,05 mmol) e 200 mL de acetonitrila. Esta mistura foi deixada sob agitação magnética e refluxo por 3 h (Esquema 11).

Após este período, deixou-se a mistura reacional a temperatura ambiente, a qual foi concentrada sob pressão reduzida. O produto foi recristalizado com 40 mL de etanol e lavado com hexano, o que resultou em 7,28 g de um sólido levemente alaranjado (68,3%).

RMN de 1H (500 MHz – $CDCl_3$ /TMS) δ (ppm): 2,45 (s; 3H; CH_3), 3,87 (s; 3H; OCH_3), 5,20 (s; 2H; H-2), 6,93 (d; 9,0; 2H; H-3; H-5), 7,34 (d; 8,5; 2H; H-3'; H-5'), 7,83 (d; 9,0; 2H; H-2; H-6), 7,86 (d; 8,5; 2H; H-2'; H-6') (pg. 201).

RMN de ^{13}C (125 MHz - $CDCl_3$ /TMS) δ (ppm): 21,7 (CH_3), 55,5 (OMe), 69,8 (C-2), 114,1 (C-3; C-5), 126,8 (C-4'), 128,2 (C-2; C-6), 129,9 (C-3'; C-5'), 130,4 (C-2'; C-6'), 132,6 (C-1), 145,2 (C-1'), 164,3 (C-4), 188,7 (C-1) (pg. 201).

3.6.3.2.2 (*S*)-2-tosiloxi-1-(*p*-metoxifenil)etanol.



Esquema 12. Esquema da reação de Noyori.

Em um balão de 50 mL com junta esmerilhada e sob atmosfera inerte de N_2 , foi adicionado 1,5 g de α -tosiloxi-*p*-metoxiacetofenona (4,68 mmol), 0,01457 g de $RuCl[(R,R)TsDPEN](mesitileno)$ (0,023 mmol), juntamente com 2,34 mL de ácido

fórmico/trietilamina (5:2), dissolvidos em 25 mL de acetato de etila. Esta mistura foi deixada sob agitação magnética a temperatura ambiente por 16 h (Esquema 12), conforme descrito por Fujii *et al.* (1996) e Lee *et al.* (2007).

Após este período, foi adicionado água destilada (20 mL) e acetato de etila (10 mL). A camada orgânica foi separada, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se 1,49 g de um sólido branco cristalino (98,7%).

RMN de ^1H (500 MHz – CDCl_3/TMS) δ (ppm): 2,44 (s; 3H; CH_3), 3,79 (s; 3H; OCH_3), 4,03 (dd; 10,3; 8,5; 1H; H-2a), 4,10 (dd; 10,3; 3,4; 1H; H-2b), 4,92 (dd; 8,5; 3,4; 1H; H-1), 6,86 (d; 8,6; 2H; H-3; H-5), 7,23 (d; 8,6; 2H; H-3'; H-5'), 7,33 (d; 8,6; 2H; H-2; H-6), 7,76 (d; 8,6; 2H; H-2'; H-6') (pg. 202).

RMN de ^{13}C (125 MHz - CDCl_3/TMS) δ (ppm): 21,7 (CH_3), 55,3 (OMe), 71,5 (C-2), 74,3 (C-1), 114,0 (C-3; C-5), 127,5 (C-2; C-6), 127,9 (C-3'; C-5'), 129,9 (C-2'; C-6'), 130,3 (C-4'), 132,6 (C-1), 145,0 (C-1'), 159,6 (C-4) (pg. 202).

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +7,93$ (conc. 0,72; CHCl_3).

3.6.3.2.3 (S)-2-azida-1-(4-metoxifenil)etanol. Esta reação ocorreu de acordo com a metodologia já descrita - ver seção 3.6.3.1.3 para metodologia e dados de RMN de ^1H e ^{13}C (pg. 76). Houve alteração apenas nas quantidades: 1,49 g do produto tosilado (4,65 mmol), 30 mL de dimetilformamida anidra e 1,81 g de azida de sódio (27,95 mmol). Obteve-se 0,90 g de um óleo amarelo impuro.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +35,01$ (conc. 1,6; CHCl_3).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} \text{ literatura} = +114,3$ (conc. 1,3; CHCl_3) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.6.3.2.4 (S)-2-amino-1-(4-metoxifenil)etanol. Esta reação ocorreu de acordo com a metodologia já descrita - ver seção 3.6.3.1.4 para metodologia e dados de RMN de ^1H e ^{13}C (pg. 77). Houve alteração apenas nas quantidades: 0,86 g do produto azida (4,48 mmol), 15 mL de metanol e 0,0694 g do catalisador 10% Pd/C. Obteve-se 0,739 g de um óleo amarelo (99,3%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +13,31$ (conc. 0,5; MeOH).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +37,8$ (conc. 1,1, EtOH) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.6.3.2.5 (S)-aegeline. Esta reação ocorreu de acordo com a metodologia já descrita - ver seção 3.6.3.1.5 para metodologia e dados de RMN de ^1H , ^{13}C , IV e EM (pg. 77-78). Houve alteração apenas nas quantidades: 0,709 g de S-(+)-2-amino-1-(4-metoxifenil)etanol (4,24 mmol) em 32,5 mL de diclorometano anidro, 12,7 mL de piridina

anidra e 0,778 g de cloreto de cinamoila (4,66 mmol) dissolvido em 10 mL de diclorometano anidro. Após purificação obteve-se 0,156 g de um sólido amarelo (12,4%).

$[\alpha]_D^{21} = +28,35$ (conc. 0,16; CHCl_3).

$[\alpha]_D^{25} \text{ literatura} = +34,1$ (conc. 0,4; CHCl_3) (KAMAL *et al.*, 2004).

3.7 METODOLOGIA DO ENSAIO INSETICIDA

A atividade inseticida dos constituintes sintetizados e adquiridos comercialmente, foi realizada durante o período de doutorado sanduiche no Laboratório de Ecologia Química, na Universidade de Nevada, Reno, EUA, sob orientação do prof. Dr. Lee Dyer.

Ovos de *Spodoptera exigua* foram adquiridos a partir da colônia mantida no laboratório do Prof. Dyer. Após a eclosão, 506 larvas foram submetidas a dietas artificiais. A dieta controle consistiu em 35 g de dieta para lagarta com 200 mL de água destilada e para dietas experimentais, os constituintes foram adicionados à dieta controle. A quantidade de constituinte foi relativa à concentração isolada na espécie vegetal *M. obtusa*, diluídos em 0,32 mL de etanol.

Para verificar a existência de interações sinérgicas, o efeito dos compostos individuais foi comparado com os efeitos de misturas equimolares dos constituintes. Desta forma, analisou-se individualmente **MO 1** (aegelina), **MO 2** (cinamamida), **MO 3A** (β -sitosterol), **MO 3B** (estigmasterol), **MO 4** (estigmast-4-en-3-ona) e **NMO 1** ((*R*)-6'-desmetoxi aegelina). E como mistura analisou-se a mistura dos esteroides (**MO 3A + MO 3B + MO 4**), misturas das amidas (**MO 1 + MO 2**) e (**NMO 1 + MO 2**) e mistura de todos os constituintes (**MO 1 + MO 2 + MO 3A + MO 3B + MO 4**) e (**NMO 1 + MO 2 + MO 3A + MO 3B + MO 4**). Os tratamentos consideraram 4 concentrações diferentes para cada amostra, sendo para MO1 e NMO1 (0,1; 0,5; 0,8; 1), para MO2 e MO4 (0,05; 0,1; 0,2; 0,5), para MO3A (0,05; 0,1; 0,3; 0,6), para MO2B (0,01; 0,07; 0,2; 0,5), para as misturas de amidas (0,5; 0,8; 1; 1,6), para a mistura de esteroides (0,6; 0,9; 1,05; 1,2) e para a mistura total (0,5; 0,75; 1; 1,25).

As larvas do primeiro estágio foram colocadas em copos plásticos opacos com a dieta e criadas numa câmara de crescimento (28 °C). Diariamente avaliou-se a massa larval, a necessidade de comida fresca, a data de alteração de estágio, de pupação e data de morte. Na pupação a massa final foi obtida e a data da idade de adulto foi anotada após a eclosão.

A análise foi realizada utilizando modelos dose dependente lineares generalizados e regressões lineares, comparando os melhores modelos de ajuste.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Manekia obtusa* E *Piper cubataonum*

Inicialmente o óleo essencial das partes aéreas de *M. obtusa* e das folhas e galhos de *P. cubataonum* foram analisados separadamente por CG-EM (Tabela 18 – Anexo 1 – pg. 164). O óleo essencial de *M. obtusa* apresentou 0,04% (m/m) de rendimento e foram identificados 22 constituintes, o que representa 79,5 % dos compostos do óleo essencial. O cromatograma (Figura 17) revelou-se constituído majoritariamente por sesquiterpenos oxigenados (aproximadamente 57% do óleo total), dentre os quais se destacam: espatulenol (17,4%), *E*-nerolidol (13,4%) e selin-11-en-4 α -ol (7,3%). O gênero *Manekia*, apresenta oito espécies (SCHUBERT *et al.*, 2012), destas, *M. naranjoana* e *M. obtusa* tiveram seu óleo essencial estudado. No estudo de Chaverri; Diaz; Ciccio (2011) o óleo essencial de *M. naranjoana* revelou como constituintes majoritários os hidrocarbonetos monoterpênicos: β -pineno (30,6%), α -pineno (18,8%) e limoneno (13,7%).

A caracterização química do óleo essencial de *M. obtusa* coletada em outra localidade (Morretes, PR) já havia sido realizada previamente por nosso grupo de pesquisa (FERNANDES, 2006), apresentando-se distinta da descrita neste trabalho (São Paulo, SP), onde o óleo essencial das folhas apresentou 42% de monoterpênicos e 24,9% de sesquiterpenos. Os monoterpênicos majoritários foram β -felandreno (17,4%) e α -pineno (15,1%) e os sesquiterpenos majoritários foram *E*-cariofileno (9,4%) e germacreno (7,9%). O óleo essencial dos galhos apresentou 31,5% de monoterpênicos e 33,4% de sesquiterpenos, sendo os monoterpênicos majoritários o β -felandreno (17,2%) e α -pineno (9,7%) e os sesquiterpenos majoritários o *E*-cariofileno (15,6%) e α -humuleno (8,7%). Além disso, no trabalho de Marques *et al.* (2013), o óleo essencial das folhas de *M. obtusa* coletada em Itajubá, MG, apresentou como constituintes majoritários δ -3-careno (57%), α -pineno (6,3%) e safrol (4,0%). Nos galhos encontrou-se δ -3-careno (41%), seguido de safrol (8,3%) e β -elemeno (7,2%) como majoritários.

Esta diferença encontrada pode ser atribuída às diferentes condições de crescimento das plantas, como clima, luz, temperatura, disponibilidade de água, altitude, área geográfica, estações, condições do solo e período de colheita (PAULI, 2001; BARROS *et al.*, 2009).

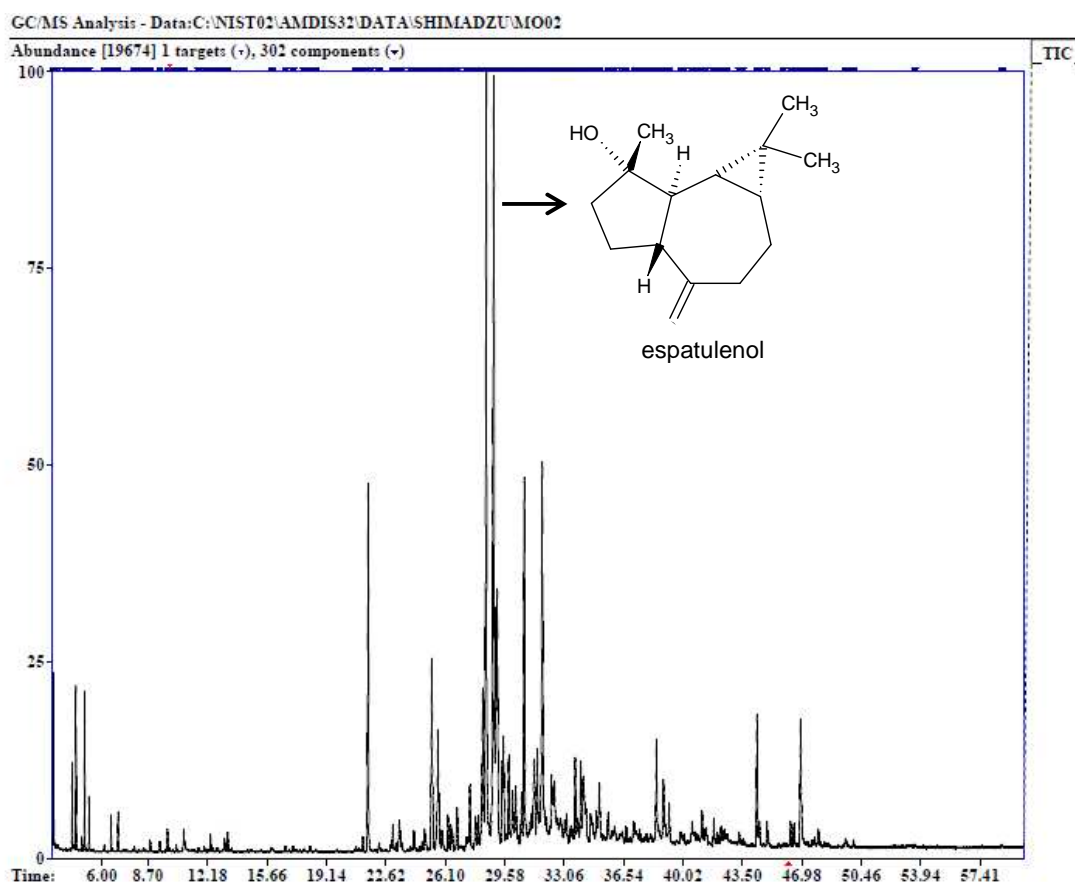


Figura 17. Cromatograma do óleo essencial das partes aéreas de *M. obtusa* obtido por CG-EM.

O óleo essencial das folhas de *Piper cubataonum* apresentou rendimento de 1,96% (m/m) e os galhos de 0,44% (m/m), sendo possível caracterizar 14 e 20 constituintes principais, respectivamente, o que representa 96,8% e 98,5% dos constituintes do óleo essencial (Tabela 18, Anexo 1 – pg. 164). Os cromatogramas das folhas e galhos foram semelhantes e apresentaram dois sinais intensos, correspondentes aos alilfenóis, dilapiol e apiol, que somados representam aproximadamente 90% do óleo essencial total (Figura 18). Os demais constituintes minoritários são representados por sesquiterpenos hidrocarbonetos. Devido ao óleo essencial das folhas e galhos de *P. cubataonum* serem muito semelhantes, os cromatogramas serão apresentados apenas para as folhas.

A caracterização química do óleo essencial de *Piper cubataonum*, está sendo descrita aqui pela primeira vez. Porém, a sua caracterização química revelou-se condizente com outras espécies da família Piperaceae. É comum as espécies do gênero *Piper* apresentarem na composição química do seu óleo essencial alilfenóis, muitos dos quais apresentam alguma atividade biológica. Como por exemplo, o dilapiol, isolado de *P. aduncum*, que revelou atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* (PARMAR *et al.*, 1997).

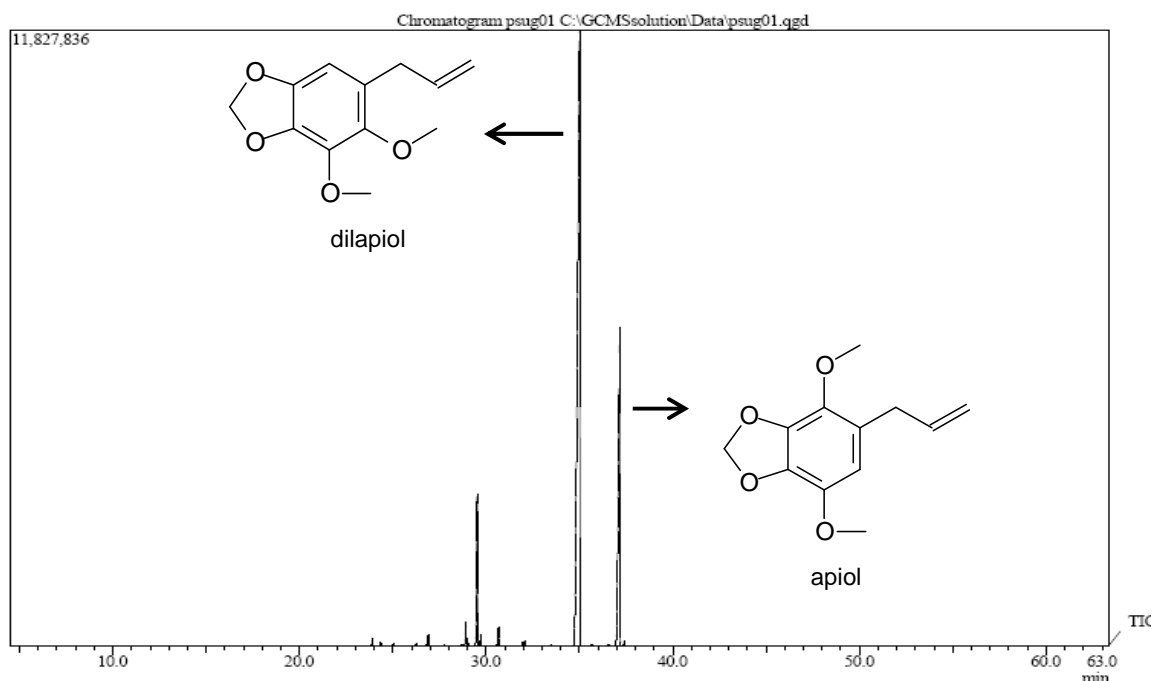


Figura 18. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *P. cubataonum* obtido por CG-EM.

Em uma análise monodimensional, uma separação real não pode ser encontrada para amostras complexas, enquanto que a análise por CG×CG, devido à presença de duas colunas, e consequentemente dois processos de separação, é possível obter uma resolução e separação superiores. Deste modo, os óleos essenciais também foram caracterizados por Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente (Tabela 18, Anexo 1 – pg. 164). Para comparar ambas as técnicas, no CG×CG utilizou-se a mesma fase estacionária que na CG-EM na coluna da primeira dimensão (coluna apolar) e todas as condições experimentais possíveis foram mantidas. Conforme descrito por Wu *et al.* (2004), o sistema convencional de colunas é utilizar na primeira dimensão uma coluna longa apolar e na segunda uma coluna curta e polar, o que proporciona uma melhor separação das amostras, pois permite dois mecanismos de separação independentes, neste caso, permitindo na 1D uma separação de acordo com a pressão de vapor dos analitos e na segunda dimensão de acordo com suas polaridades. Através desta técnica, foi possível caracterizar 80 constituintes nas partes aéreas de *M. obtusa*, além de 57 e 66 constituintes das folhas e galhos de *P. cubataonum*, respectivamente. Na Figura 19, é possível observar um gráfico de volatilidade (1ª dimensão) por polaridade (2ª dimensão) das partes aéreas de *M. obtusa* com os constituintes devidamente numerados conforme Tabela 18.

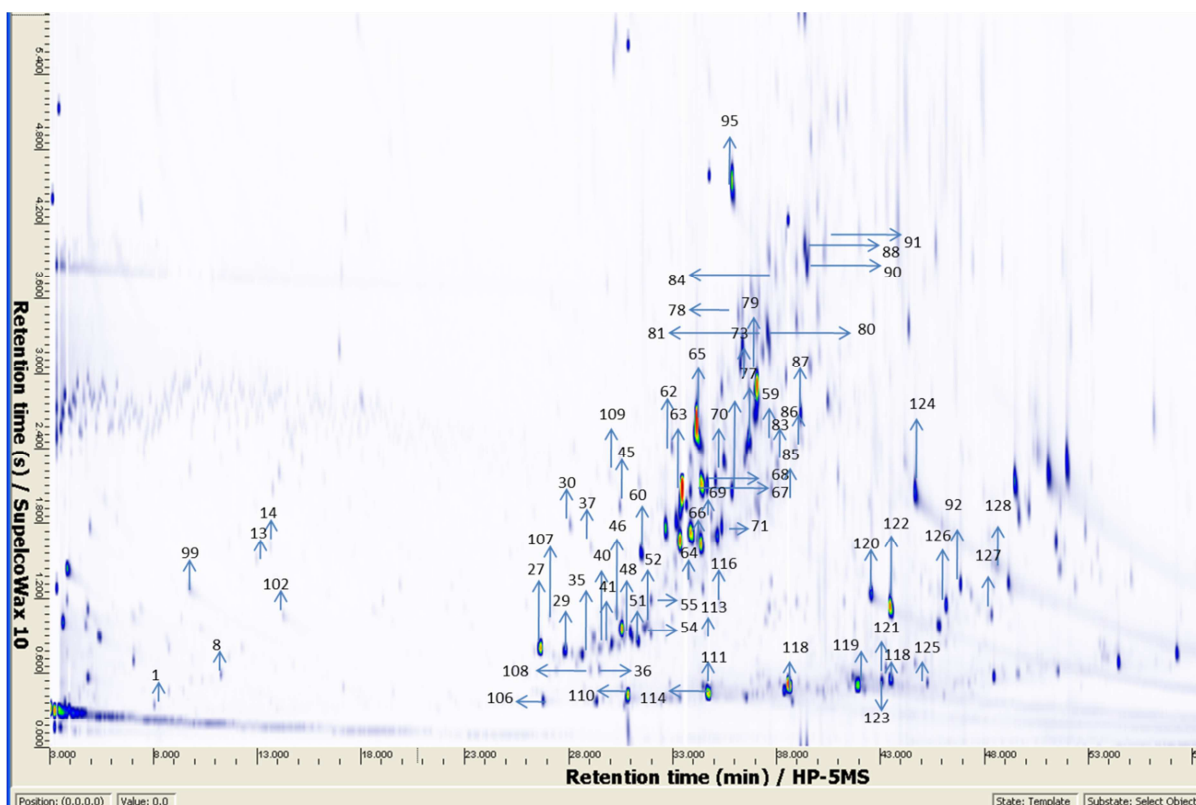
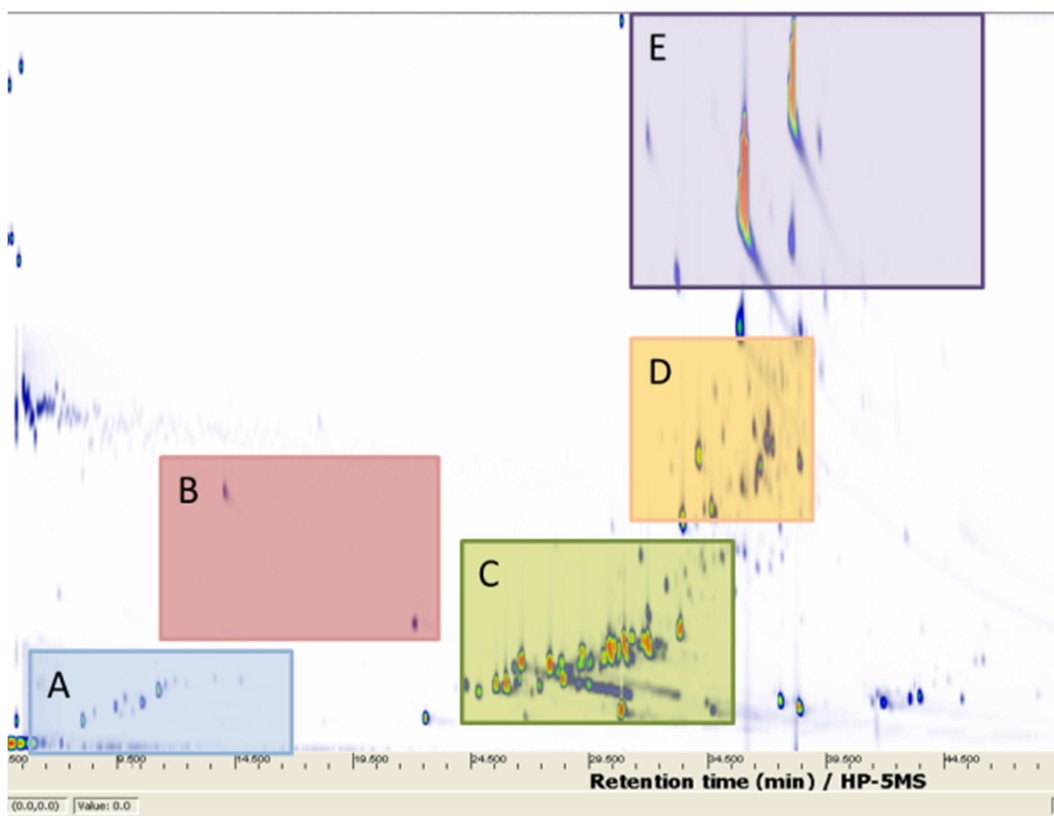


Figura 19. Cromatograma 2D dos constituintes identificados de *M. obtusa*.

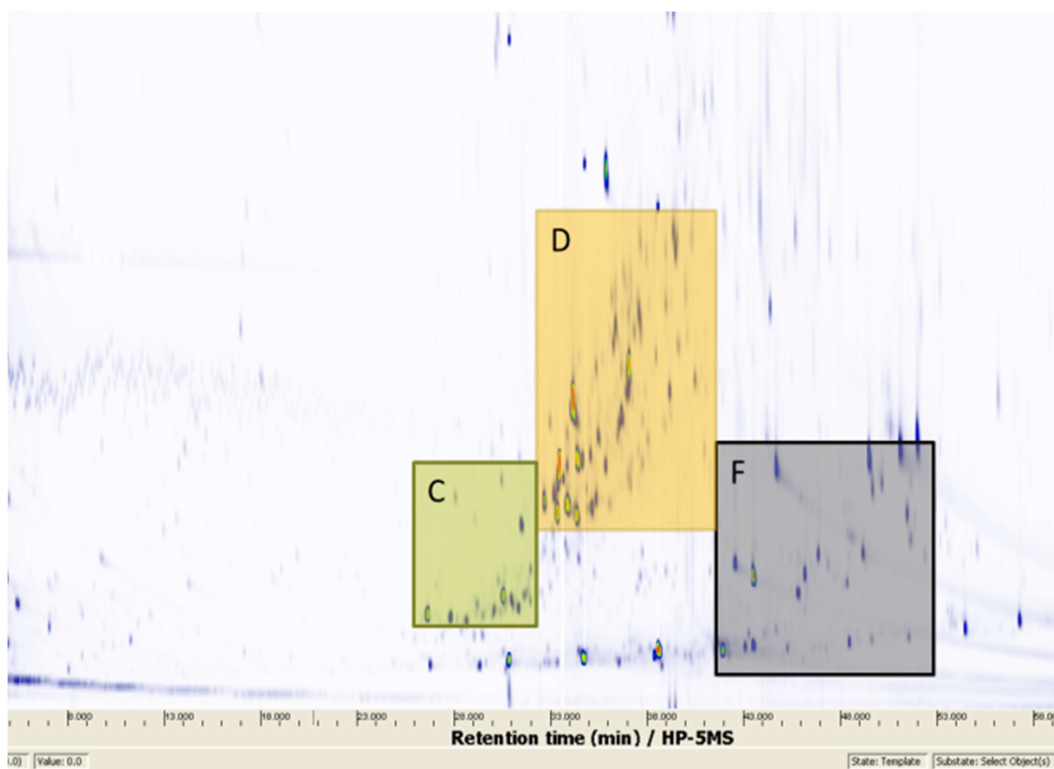
Dentre os 128 constituintes caracterizados nas duas espécies, 12 são hidrocarbonetos monoterpênicos, 10 monoterpênicos oxigenados, 37 hidrocarbonetos sesquiterpênicos, 32 sesquiterpenos oxigenados, 1 diterpeno, 5 arilpropanóides, 3 cetonas alifáticas, 1 cetona cíclica, 3 ésteres alifáticos, 6 aldeídos alifáticos, 4 álcoois alifáticos, 10 hidrocarbonetos alifáticos, 2 hidrocarbonetos não identificados, 1 constituinte aromático não identificado e ftalato de dietila.

A separação ortogonal bidimensional faz com que constituintes similares se apresentem em grupos próximos, formando cromatogramas estruturados. Um cromatograma típico de 2D de um óleo essencial, nos permite observar a região de hidrocarbonetos monoterpênicos e uma região similar com maior tempo de retenção na 1D para sesquiterpenos hidrocarbonetos. Os monoterpênicos e sesquiterpenos oxigenados são tipicamente encontrados em um tempo de retenção próximo à sua classe não oxigenada na primeira dimensão, porém devido a sua maior interação polar, estes são observados em uma região com maior t_R (MATEUS *et al.*, 2010; SHELLIE *et al.*, 2002). De acordo com os índices de retenção e identidade química dos constituintes na Figura 20A, observa-se a análise do óleo essencial das folhas de *P. cubataonum* a qual apresentou um padrão de distribuição característico de óleos essenciais, sendo observados cinco grupos químicos: na região (A) hidrocarbonetos monoterpênicos, na região (B) os monoterpênicos oxigenados, os quais apresentam maior t_R que os não oxigenados, devido a sua interação com a coluna polar na segunda dimensão, na região

(C) hidrocarbonetos sesquiterpênicos, na região (D) os sesquiterpenos oxigenados, também com 2t_R superior aos sesquiterpenos hidrocarbonetos devido a sua polaridade, e na região (E) observa-se os fenilpropanoides. Na análise do óleo essencial das partes aéreas de *M. obtusa* (Figura 20B) foi possível observar três grupos, sendo identificados como sesquiterpenos hidrocarbonetos na região (C), seguido dos sesquiterpenos oxigenados (D) com aumento de 2t_R devido a sua polaridade e na região (F), observa-se a presença de outros constituintes.



(A)



(B)

Figura 20. Cromatograma CG×CG das: (A) Folhas de *Piper cubataonum* e (B) Partes aéreas de *Manekia obtusa*. Ressaltando os principais grupos: (A) hidrocarbonetos monoterpênicos, (B) monoterpênicos oxigenados, (C) hidrocarbonetos sesquiterpênicos, (D) sesquiterpênicos oxigenados, (E) fenilpropanoides e (F) outros.

A distribuição dos constituintes dos óleos na coluna apolar, da primeira dimensão, está diretamente correlacionada com a separação obtida na análise monodimensional. A adição de uma segunda coluna polar pode resolver muitos sinais sobrepostos. Devido a menor capacidade de pico na análise monodimensional, muitos sinais sobrepostos e constituintes menos concentrados são incorporados por sinais mais largos. Na CG×CG, a resolução superior e menor co-eluição, leva a sinais mais resolvidos e precisos (WU *et al.*, 2004; ZHU *et al.*, 2005; GAINES *et al.*, 1999). No óleo essencial de *M. obtusa*, o alto poder de resolução de CG×CG é visivelmente demonstrado pelo constituinte majoritário espatulenol (IR=1586 - sinal 65), que aparece como um único sinal na Figura 21 na análise monodimensional, o qual pode ser separado, no mínimo em seis constituintes pela análise por CG×CG, sendo estes globulol (IR=1592, sinal 67), viridiflorol (IR=1600, sinal 68), cubeban-11-ol (IR=1605, sinal 69), óxido de cariofileno (IR=1592, sinal 66), dodecanoato de etila (IR=1591, sinal 113), 1-hexadeceno (IR=1595, sinal 111), *n*-hexadecano (IR=1600, sinal 114), os quais são separados apenas na segunda dimensão.

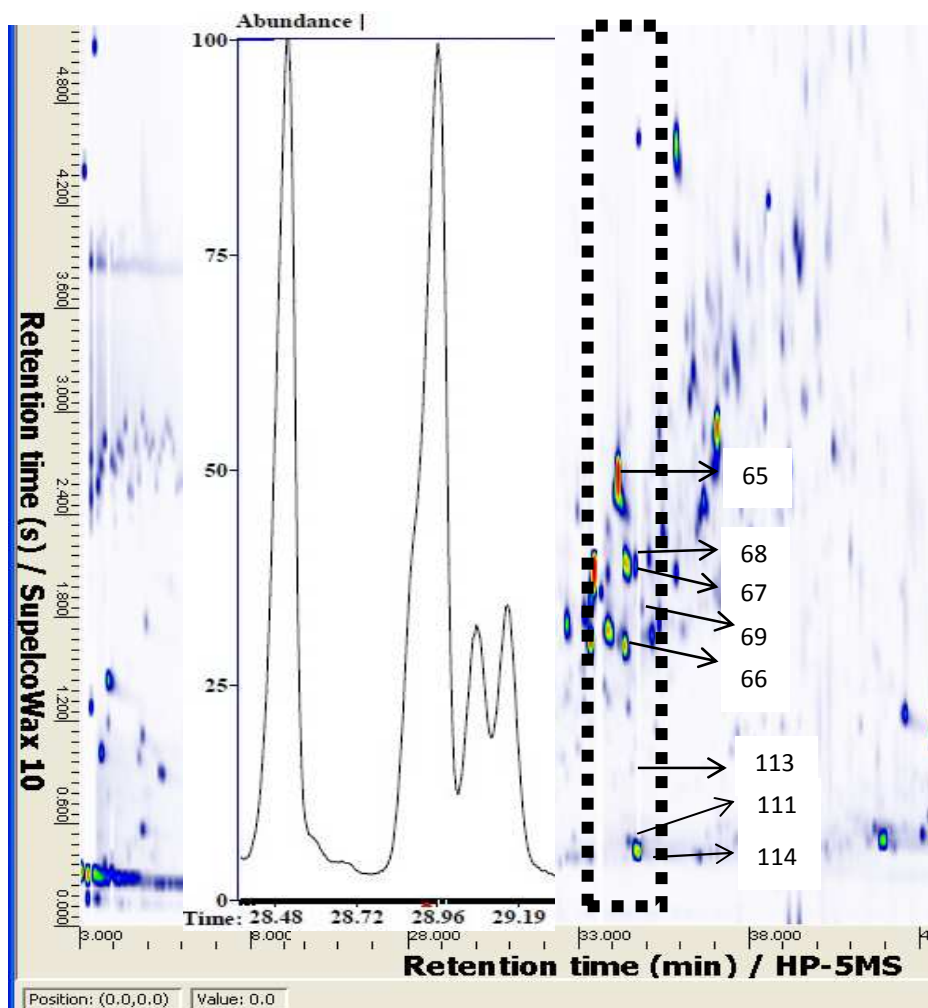


Figura 21. Sobreposição do espatulenol na análise 1D e separação em seis sinais na análise por CG×CG, do óleo essencial de *M. obtusa*.

4.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS

O estudo fitoquímico do extrato diclorometânico das partes aéreas de *M. obtusa* forneceu cinco compostos e do extrato metanólico das raízes de *P. cubataonum* foram identificados onze compostos, e a seguir, será discutido a determinação estrutural das substâncias isoladas.

4.2.1 Determinação Estrutural das Amidas

4.2.1.1 Determinação de **MO 1**

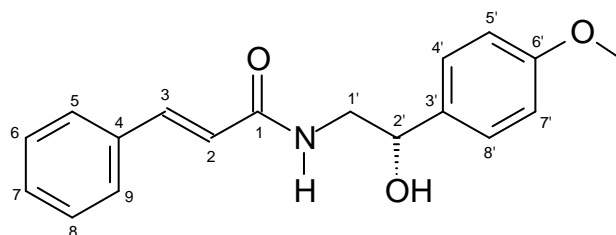


Figura 22. Estrutura química de **MO 1** - aegelina

A substância **MO 1** (Figura 22) (Tabela 5) foi isolada das frações F13, F13 (14), F13 (16) de *M. obtusa*. Este composto apresentou-se como um sólido branco-amarelado amorfo.

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância **MO 1**.

Posição	MO 1 ^{13}C (δ) ^a	Aegelina ^{13}C (δ) ^b	MO 1 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Aegelina ^1H (δ) ^c (mult., J em Hz)	^{LD} $J_{\text{H-C}}$
1	167,3	167,4			
2	120,1	120,7	6,50 (d; 15,7; 1H)	6,56 (d; 15,6; 1H)	1, 4
3	141,0	141,1	7,60 (d; 15,7; 1H)	7,57 (d; 15,6; 1H)	1, 2, 5, 9
4	134,5	134,6			
5, 9	127,6	127,8 - 129,6	7,52 (m; 2H)	7,50 (d; 8,0; 2H)	3, 7
6, 8	128,6		7,38 (m; 3H)	7,36 (m; 3H)	4
7	129,6				5, 9
1'	47,1	47,1	3,41 (dd; 13,9; 8,1; 1H) 3,69 (dd; 13,9; 3,7; 1H)	3,35 (dd; 14,0; 8,2; 1H) 3,72 (dd; 14,0; 3,5; 1H)	1, 2', 3'
2'	72,2	72,2	4,80 (dd; 8,1; 3,7; 1H)	4,79 (dd; 8,2; 3,5; 1H)	1', 3', 4'
3'	133,9	133,9			
4', 8'	126,9	128,0	7,33 (d; 8,8; 2H)	7,33 (d; 8,0; 2H)	2', 4', 6', 8'
5', 7'	113,6	113,7	6,90 (d; 8,8; 2H)	6,77 (d; 8,0; 2H)	3', 5', 6', 7'
6'	158,8	158,9			

OCH ₃	55,0	56,0	3,81 (s; 3H)	3,80 (s; 3H)	6'
------------------	------	------	--------------	--------------	----

^aExperimento realizado a 200 MHz para ¹H, 400 MHz para HMBC e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃ + gotas de MeOD, utilizando o TMS como padrão interno. ^bALI, M. *et al.* Naturally Occurring Antifungal Aromatic Esters and Amides. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 32, n.4, p.565-570, 2010. ^cCORTEZ, N. A. *et al.* Synthesis of (*R*)-tembamide and (*R*)-aegeline via asymmetric transfer hydrogenation in water. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 24, p. 1297–130, 2013.

A análise do espectro RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 1 e 2 – pg. 171) apresentou três duplos dupletos cada um com integração para um hidrogênio: em δ 3,41 ppm com constantes de acoplamento de 13,9 e 8,1 Hz; em δ 3,69 ppm com constantes de acoplamento de 13,9 e 3,7 Hz e em δ 4,80 com constantes de acoplamento de 8,1 e 3,7 Hz, referentes aos H-1'a, H-1'b e H-2', respectivamente. Os hidrogênios em δ 3,41 e 3,69 ppm são geminais (H-1'), visto que a constante de acoplamento é de 13,9 Hz, correspondendo a um metileno acoplado com um metino (H-2') em δ 4,80 ppm. O simpleto em δ 3,81 ppm com integração para três hidrogênios indica a presença de uma metoxila ligada ao anel aromático. Observa-se ainda em δ 6,50 (H-2) e 7,60 ppm (H-3) dois dupletos com constante de acoplamento de 15,7 Hz com integração para um hidrogênio cada, que são referentes aos hidrogênios ligados ao carbono da ligação dupla que apresenta configuração *E*. Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se a presença de dois dupletos em δ 6,90 (H-5' e H-7') e δ 7,33 ppm (H-4' e H-8') com constante de acoplamento de 8,8 Hz e com integração para dois hidrogênios cada, correspondendo a um anel aromático *para* substituído. Nesta região, observam-se ainda dois multipletos: em δ 7,38 ppm com integração para três hidrogênios e em δ 7,52 ppm com integração para dois hidrogênios, correspondendo ao anel aromático monosubstituído.

Pela análise do espectro de RMN de ¹³C (Anexo 1 – Espectro 3 – pg. 172) e o mapa de correlação direta ¹H-¹³C (Anexo 1 – Espectro 4 – pg. 172) de **MO 1** observou-se a presença de 18 carbonos sendo 14 na região de carbono sp², localizados entre δ 113,6 e 158,8 ppm, dentre eles dois quaternários, um em δ 134,5 ppm (C-4) e outro em δ 133,9 ppm (C-3'). Nesta região observa-se também a presença dos dois carbonos da ligação dupla, um em δ 120,1 ppm (C-2) e outro em δ 141,0 ppm (C-3), confirmados pelos mapa de correlação direta ¹H-¹³C. Observa-se ainda, o sistema metileno-metino, sendo em δ 47,1 ppm o sinal do metileno (C-1') e em δ 72,2 ppm o sinal do metino (C-2'). Além disso, é possível observar também a metoxila em δ 55,0 ppm e a carbonila em δ 167,3 ppm, consistente com a estrutura de **MO 1**.

Através da análise do mapa de correlação ¹H-¹³C a longa distância (Anexo 1, Espectro 5 - pg. 173), é possível observar a correlação do sinal em δ 7,33 ppm (H-4' e H-8') a J³ com os sinais dos carbonos em δ 158,8 (C-6') e δ 72,2 (C-2'), confirmando a posição da metoxila neste anel. Observa-se também a correlação do sinal em δ 7,60 ppm

(H-3) a J^3 com os sinais da carbonila em δ 167,3 (C-1) e com os carbonos em δ 127,6 (C-5 e C-9), confirmando a presença no anel aromático monossubstituído próximo a ligação dupla. As principais correlações de HMBC podem ser visualizadas na Figura 23, sendo consistente com a amida denominada (2*E*)-*N*-[2'-hidroxi-2'-(6'-metoxifenil)etil]-3-fenil-2-propenamida, conhecida na literatura como aegelina.

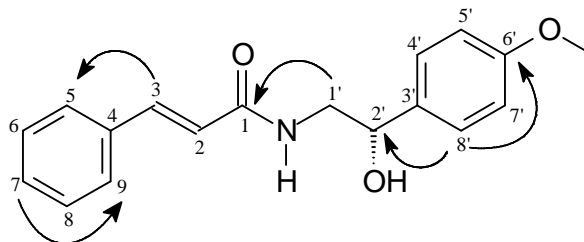


Figura 23. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância para MO 1.

A amida aegelina teve sua rotação óptica analisada, apresentando $[\alpha]_D^{26} = +32,97$ (conc. 0,5; CHCl_3), o que comparado a literatura $[\alpha]_D^{25} = +34,1$ (conc. 0,4; CHCl_3) (KAMAL *et al.*, 2004) para a (S)-aegelina, nos permite atribuir para a aegelina isolada a configuração (S), conforme representado na Figura 22.

Diferentes famílias já revelaram a presença de aegelina. Na família Piperaceae esta substância foi encontrada nas folhas de *Manekia naranjoana* e revelou atividade antileishmaniose (WILLIAMS *et al.*, 2003). Também foi encontrada em espécies da família Rutaceae, como *Zanthoxylum coriaceum* (SWINEHART; STERMIT, 1980), *Zanthoxylum ocumarense* (MARCANO; HASEGAWA; CASTALDI, 1972; SWINEHART; STERMITZA, 1980) e *Aegle marmelos*, cuja atividade anti-hiperlipidêmica e antidislipidêmica mostrou-se promissora no trabalho de Narender *et al.*, (2007). A aegelina foi obtida ainda nas cascas de espécie *Mitrella kentii* (Annonaceae) (ELLIS; GELLERT; SUMMONS, 1972), e de *Solanum erianthum* (Solanaceae), a qual não apresentou atividade antifúngica considerável conforme citado por Ali *et al.* (2010).

4.2.1.2 Determinação de MO2

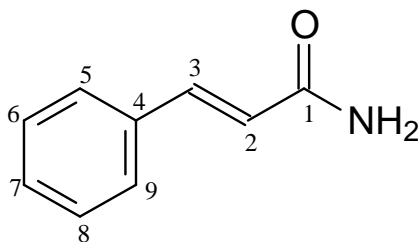


Figura 24. Estrutura química de MO 2 – cinamamida.

A substância **MO 2** (Figura 24) (Tabela 6) isolada da fração F10 (50-55) A de *M. obtusa* apresentou-se como um sólido amarelado amorfo.

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C para a substância **MO 2**.

Posição	MO 2 ^{13}C (δ) ^a	MO 2 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz) ^a	Cinamamida ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)
1	167,7		
2	119,4	6,47 (d; 15,7; 1H)	6,47 (d; 15,6; 1H)
3	142,6	7,66 (d; 15,7; 1H)	7,65 (d; 15,6; 1H)
4	134,5		
5, 9	127,9	7,52 (m; 2H)	7,51 (m; 2H)
6, 8	128,9	7,38 (m; 3H)	7,38 (m; 3H)
7	130,0		
NH ₂	-	5,64 (sl; 2H)	5,77; 5,92 (sl; 2H)

^aExperimento realizado a 200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando TMS como padrão interno. ^bLEE, H.S.; KIM, S.H.; KIM, J.N. Facile One-Pot Synthesis of Cinnamamides from Aromatic Aldehydes and Acetonitrile with Me_3SiOK . *Bulletin of the Korean Chemical Society*, v. 32, n.5, p. 1748-1750, 2011.

A análise do espectro RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 – Espectro 6 e 7 – pg. 173 e 174) apresentou sinais semelhantes a **MO 1**, com os sinais de hidrogênios em δ 6,47 (H-2) e 7,66 ppm (H-3) como dois dupletos com constante de acoplamento de 15,7 Hz com integração para um hidrogênio cada, que são referentes aos hidrogênios sobre a ligação dupla com configuração *E*. Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se a presença de dois multipletos: em δ 7,38 ppm com integração para três hidrogênios e em δ 7,52 ppm com integração para dois hidrogênios, correspondendo ao anel aromático monosubstituído. Diferente da amida anteriormente isolada, em **MO 2** houve ausência dos sinais referentes aos hidrogênios 1' a 7', sendo neste caso uma amida não substituída.

Para a confirmação da atribuição dos hidrogênios de NH_2 em δ 5,65 ppm, foram adicionadas gotas de água deuterada (D_2O) na solução com a amostra, sendo possível observar o desaparecimento deste sinal (Anexo 1 – Espectro 8 – pg. 174).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C confirmou a estrutura de **MO 2**, onde observou-se a presença de 9 carbonos, sendo 8 na região de carbonos sp^2 entre δ 119,4 e 142,6 ppm, dentre eles, um quaternário em δ 134,5 ppm (C-4). Nesta região observa-se também a presença dos dois carbonos da ligação dupla, em δ 119,4 ppm (C-2) e em δ 142,6 ppm (C-3). Os demais correspondem aos carbonos do anel aromático monosubstituído e a carbonila é observada em δ 167,7 ppm, consistente com a substância 3-fenil-2-propenamida, conhecida na literatura como cinamamida.

A cinamamida já foi descrita em outra espécie da família Piperaceae, *Piper taiwanense*, a qual não apresentou efeito antiplaquetário (CHEN *et al.*, 2004). Também foi encontrada em *Aristolochia kaempferi* (Aristolochiaceae) (WU; LEU; CHAN, 1998), em

Clausena lansium (Rutaceae) (SHEN *et al.*, 2012), em *Verbascum pseudonobile* (Scrophulariaceae) (NINOVA; KOBALICOVA; TROJANEK, 1984) e na espécie *Ochreinauclea maingayii* (Rubiaceae) (MUKHTAR *et al.*, 2012).

4.2.2 Determinação estrutural dos esteroides

4.2.2.1 Determinação de **MO 3**

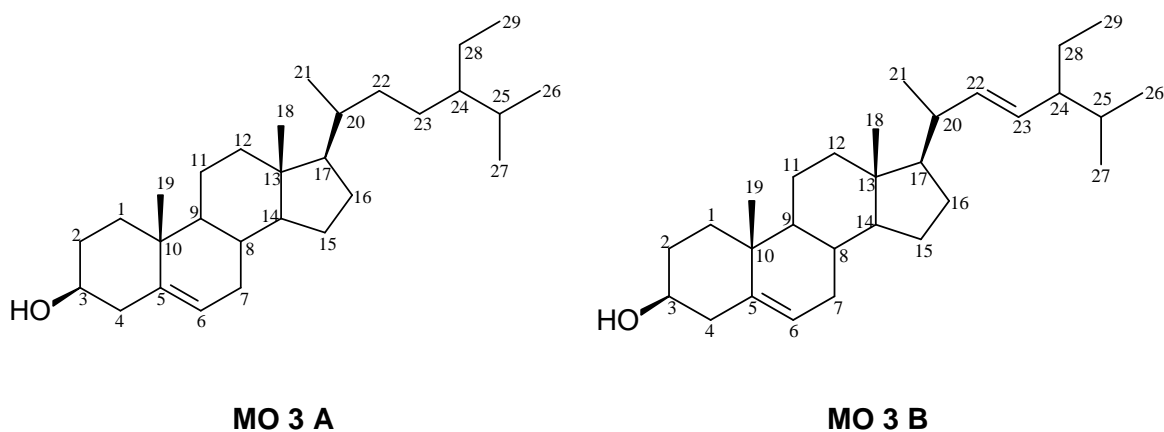


Figura 25. Estrutura química de MO 3A – β-sitosterol e MO 3B – estigmasterol

A substância **MO 3** (Figura 25) (Tabela 7) isolada da fração F10 (23-26) de *M. obtusa* e da fração F 16-19 D (B) de *P. cubataonum* apresentou-se como um sólido cristalino branco em forma de agulhas.

Tabela 7. Dados de RMN de ^{13}C para as substâncias MO 3A e MO 3B.

Posição	MO 3A (δ) ^a	β-sitosterol (δ) ^b	MO 3B (δ) ^a	Estigmasterol (δ) ^b
1	37,3	37,3	37,3	37,3
2	31,6	31,6	31,6	31,7
3	71,8	71,7	71,8	71,8
4	42,3	42,3	42,3	42,4
5	140,8	140,8	140,8	140,8
6	121,7	121,6	121,7	121,6
7	31,9	31,9	31,9	31,9
8	31,6	31,9	31,6	31,9
9	50,1	50,2	50,1	50,2
10	36,5	36,5	36,5	36,5
11	21,1	21,1	21,1	21,1
12	39,8	39,8	39,7	39,7
13	42,3	42,3	42,3	42,4

14	56,8	56,8	56,9	56,9
15	24,3	24,3	24,3	24,4
16	28,3	28,3	28,3	28,3
17	56,1	56,1	56,0	56,1
18	11,9	11,9	12,1	12,1
19	19,4	19,4	19,4	19,4
20	36,1	36,2	40,5	40,5
21	18,8	18,8	21,2	21,1
22	33,9	33,9	138,3	138,3
23	26,1	26,1	129,3	129,3
24	45,8	45,9	51,2	51,3
25	29,2	29,2	31,6	31,9
26	19,8	19,8	21,2	21,3
27	19,1	19,1	19,0	19,0
28	23,1	23,1	25,4	25,4
29	12,3	12,3	12,3	12,3

^aExperimento realizado a 50 MHz para ¹³C em CDCl₃ utilizando TMS como padrão interno. ^bGOULART, M. O. F. *et al.* Fitocostituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*, atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos Jatrolonas A e B. **Química Nova**, v. 16, n.2, p. 95-100, 1993.

A análise do espectro RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 9 – pg. 175) apresentou sinais característicos de esteroides: um duplete largo em δ 5,35 ppm com constante de acoplamento 5,1 Hz atribuído ao H-6 do β -sitosterol (**MO 3A**) e do estigmasterol (**MO 3B**); um multiplete em δ 3,52 ppm característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico atribuídos aos hidrogênios H-3 do β -sitosterol e do estigmasterol. Na região de δ 0,68 a 2,29 ppm verificou-se os sinais referentes aos hidrogênios metílicos e metilênicos. Observou-se em δ 5,08 ppm dois duplos dupletos com constante de acoplamento de 15,2 e 8,5 Hz e com integração para um hidrogênio cada relativos ao H-22 e H-23 do estigmasterol.

Pela análise do espectro de RMN de ¹³C (Anexo 1 – Espectro 10 – pg. 175) de **MO 3** observou-se a presença de 45 carbonos, indicando a provavelmente uma mistura esteroidal. Os sinais em δ 138,3 ppm e δ 129,3 ppm são relativos aos carbonos sp² C-22 e C-23 do estigmasterol e os sinais em δ 33,9 ppm e 26,1 ppm são relativos a estes mesmos carbonos do β -sitosterol. É possível observar ainda, sinais em δ 140,8 e 121,7 ppm característicos dos carbonos olefínicos C-5 e C-6 e o sinal em δ 71,8 ppm típico de carbono carbinólico atribuído a C-3 de ambos os compostos, consistente com os esteroides β -sitosterol e estigmasterol.

Esta mistura de compostos é frequentemente encontrada no reino vegetal. Na família Piperaceae várias espécies já relataram a ocorrência desses compostos, algumas destas são: *Piper manausense* (DE DIAZ; DIAZ; NATHAN, 1990), *Piper sarmentosum* (RUKACHAISIRIKUL *et al.*, 2004), *Piper carniconnectivum* (ALVES *et al.*, 2010), *Piper aduncum*, *Piper betle*, *Piper chiadoense*, *Piper longum*, *Piper methysticum* e *Piper taboganum* (PARMAR *et al.*, 1997). Verifica-se que o β -sitosterol apresenta-se, em geral, distribuído em todas as partes das plantas e, quando isolado em mistura com o estigmasterol, está praticamente sempre em maior proporção (GALOTTA; BOAVENTURA, 2005). As porcentagens aproximadas dos dois constituintes na mistura foram calculadas com base na integração dos sinais correspondentes ao H-6 (estigmasterol + β -sitosterol) e H-22 e H-23 (estigmasterol). Esta análise permitiu deduzir que a mistura contém 83,4% de β -sitosterol e 16,6% de estigmasterol em *M. obtusa* e 59,8% de β -sitosterol e 40,2% de estigmasterol em *P. cubataonum*.

4.2.2.2. Determinação de **MO 4**

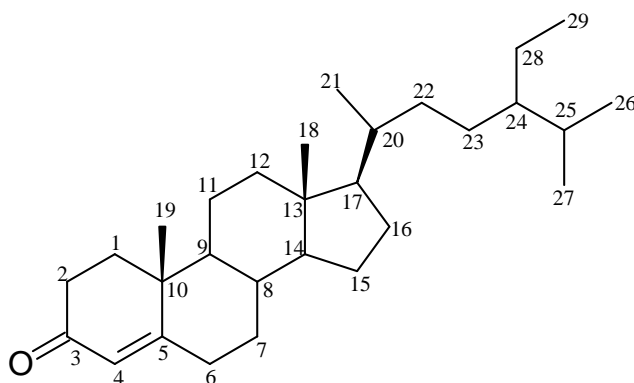


Figura 26. Estrutura química de MO4 – stigmaster-4-en-3-ona.

A substância **MO 4** (Figura 26) (Tabela 8) isolada da fração F10 (17-19) C de *M. obtusa* e F 13 (5-6) F de *P. cubataonum* apresentou-se como um sólido amorfo amarelo.

Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância MO 4.

Posição	MO 4 (δ) ^a	Estigmaster-4-en-3-ona (δ) ^b	^{LD} J _{H-C}
1	35,7	35,68	
2	33,9	33,89	3
3	199,7	198,92	
4	123,7	123,64	6, 10
5	171,8	171,01	
6	32,9	32,86	

7	32,0	32,07	
8	36,1	35,73	
9	53,8	53,84	
10	38,6	38,58	
11	21,0	21,03	
12	39,6	39,48	18
13	42,4	42,35	
14	55,9	55,94	18
15	24,2	24,12	
16	28,2	28,10	
17	56,0	56,08	
18	11,9	11,98	12, 13, 14, 17
19	17,1	17,38	1, 5, 9, 10
20	36,1	36,10	
21	18,7	18,72	17, 20, 22
22	34,0	34,01	
23	26,0	25,99	
24	45,8	45,80	
25	29,1	29,11	
26	19,8	19,81	24, 25, 27
27	19,0	18,18	24, 25, 26
28	23,0	23,10	23, 24, 29
29	11,9	11,14	28

^aExperimento realizado a 400MHz para HMBC e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃ utilizando TMS como padrão interno. ^bGRECA, M. D.; MONACO, P.; PREVITERA, L. Stigmasterols from *Typha latifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1430-1435, 1990.

A análise do espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 11 – pg. 176) apresentou sinais característicos de esteroides, e semelhantes à MO 3, com sinais na região entre δ 0,71 a 2,34 ppm características de hidrogênios metilênicos e metílicos ligados a carbono sp³ de núcleos triterpênico ou esteroidal (KOJIMA *et al.*, 1990; RAMIREZ, 2008). Desta região, destaca-se as metilas em δ 0,71 ppm, δ 0,81 ppm, δ 0,84 ppm, δ 0,86 ppm e δ 0,92 ppm e δ 1,18 ppm. A ausência de um multiplete característico de hidrogênio oximetínico da posição 3 destes núcleos, indica que esta posição está substituída (KOJIMA *et al.*, 1990; RAMIREZ, 2008).

Pela análise do espectro de RMN de ¹³C (Anexo 1 – Espectro 12 – pg. 176) de **MO 4** observou-se a presença de 29 carbonos, indicando possivelmente um esteroide. A análise dos sinais indicaram a presença de seis metilas características de núcleo esteroidal entre δ 11,9 a 19,8 ppm. Observou-se também a ausência do carbono carbinólico C-3 (aproximadamente δ 71,8 ppm no β -sitosterol) e a presença de dois

carbonos sp^2 , sendo os sinais em δ 123,7 ppm e em δ 171,8 ppm. O sinal do carbono em δ 123,7 ppm (C-4) através da análise do mapa de correlação direta 1H - ^{13}C (Anexo 1 – Espectro 13 – pg. 177) apresentou-se ligado ao hidrogênio em δ 5,72 ppm (H-4).

A análise do mapa de correlação 1H - ^{13}C a longa distância (Anexo 1 – Espectro 14 – pg. 177) (Figura 27) confirmou a existência da ligação dupla entre C-4 (δ 123,7 ppm) e C-5 (δ 171,8 ppm), uma vez que o sinal da metila H-19 (δ 1,18 ppm) apresentou correlação a J^3 com sinal do carbono sp^2 em δ 171,8 ppm (C-5). Além disso, foi possível observar a correlação do sinal em δ 2,24 ppm (H-2) a J^2 com o sinal da carbonila em δ 199,7 ppm (C-3), sendo este deslocamento característico de carbonila de cetona α,β não saturada, confirmando a estrutura consistente com o esteroide denominado estigmast-4-en-3-ona.

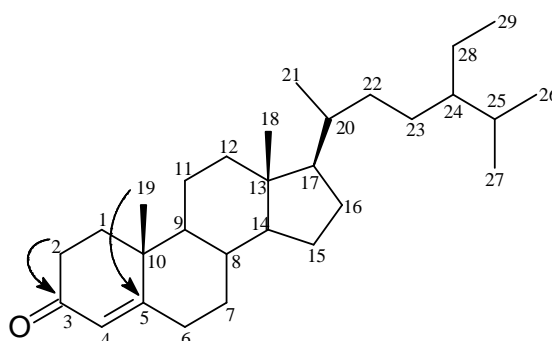


Figura 27. Principais correlações observadas no mapa de correlação 1H - ^{13}C a longa distância para MO 4.

Esta substância já foi isolada em diversas famílias do reino vegetal. Na família Piperaceae, as espécies que já relataram a ocorrência de estigmast-4-en-3-ona, foram *Piper philippinum* (CHEN; LIAO; CHEN, 2007), *Piper sintenense* (CHEN *et al.*, 2002) e *Piper betle* (GHOSH; BHATTACHARYA, 2005).

4.2.3 Determinação estrutural dos alilfenóis

4.2.3.1 Determinação de PCR 1

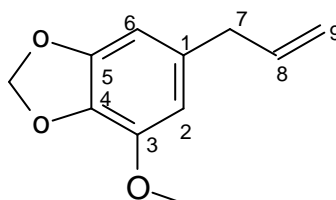


Figura 28. Estrutura química de PCR 1 – miristicina.

A substância **PCR 1** (Figura 28) (Tabela 9) foi isolada da fração F 4 (C) de *P. cubataonum*, apresentando-se como um óleo amarelado.

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOE para a substância PCR 1.

Posição	PCR 1 ^{13}C (δ) ^a	Miristicina ^{13}C (δ) ^b	PCR 1 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Miristicina ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	$^{\text{LD}}J_{\text{H-C}}$	NOE
1	134,7	134,52				
2	107,7	107,61	6,35 (d; 1,4; 1H)	6,35 (d; 1,5; 1H)	4, 6, 7	OCH ₃
3	143,5	143,43				
4	133,2	133,41				
5	148,8	148,78				
6	102,7	102,59	6,39 (d; 1,4; 1H)	6,38 (d; 1,5; 1H)	2, 4, 7	
7	40,2	40,18	3,30 (dd; 6,6; 1,4; 2H)	3,30 (d; 6,7; 2H)	1, 2, 6, 8, 9	
8	137,3	137,31	5,94 (m; 1H)	5,92 (m; 1H)	7	
9	115,9	115,76	5,06 (m; 1H) 5,10 (m; 1H)	5,06 (d; 9,6; 1H) 5,08 (d; 18,9; 1H)	7	
OCH ₂ O	101,3	101,16	5,94 (s; 2H)	5,92 (s; 2H)	4, 5	
OCH ₃	56,6	56,44	3,89 (s; 3H)	3,88 (s; 3H)	3	2

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H , HMBC, NOE e 50 MHz para ^{13}C em CDCl₃. ^bZHENG, G.Q.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Myristicin: A Potential Cancer Chemopreventive Agent from Parsley Leaf Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.40, p. 107-110, 1992.

Através da análise do espectro de RMN de ^1H (Anexo 1 – Espectro 15 – pg. 178) foi possível observar sinais característicos de alilfenóis, como sinais de hidrogênios aromáticos (δ = 6,35 (H-2) e δ 6,39 ppm (H-6), d, J = 1,4 Hz). Além disso, observou-se um duplo duplete em δ 3,30 ppm (J = 6,6 e 1,4 Hz) e dois multipletos nas regiões de δ 5,06-5,10 (H-9) e outro em 5,94 (H-8), indicando a presença de um resíduo alílico ligado ao anel aromático. Observou-se ainda um sinal relativo aos hidrogênios do grupo metilenodioxí (OCH₂O) em δ 5,94 ppm (s; 2H) e uma metoxila em δ 3,89 ppm (s; 3H).

Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C (Anexo 1 – Espectro 16 – pg. 178) observou-se a presença de 11 carbonos, sendo 8 carbonos sp^2 localizados na região entre δ 102,7 – 148,8 ppm. Através da análise do mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Anexo 1 – Espectro 17 – pg. 179) foi possível observar a correlação do sinal em δ 5,94 ppm (H-8) com o sinal do carbono δ 137,3 ppm (C-8), do sinal em δ 5,06-5,10 ppm (H-9) com o sinal do carbono em δ 115,9 ppm (C-9), bem como o sinal dos hidrogênios aromáticos δ 6,35 (H-2) e 6,39 ppm (H-6) com os sinais dos carbonos δ 107,7 (C-2) e 102,7 ppm (C-6), respectivamente.

Através da análise do mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Anexo 1 – Espectro 18 – pg. 179) (Figura 29) foi possível determinar as correlações corretas entre os grupos metilenodioxí e anel aromático. Nesta substância, o grupo metilenodioxí δ 5,94

correlacionou a J^3 com 133,2 (C-4) e 148,8 ppm (C-5). O hidrogênio aromático em δ 6,35 ppm (H-2) mostrou correlação a J^3 com os sinais em δ 133,2 (C-4), 102,7 (C-6) e 40,2 ppm (C-7) e o hidrogênio em δ 6,39 (H-6) mostrou correlação a J^3 com os sinais em δ 107,7 (C-2), 133,2 (C-4) e 40,2 (C-7).

A localização da metoxila e dos hidrogênios aromáticos foi confirmada pela análise de NOE 1D (Anexo 1 – Espectro 19 – pg. 180) (Figura 29) em que a irradiação da metoxila em δ 3,89 (OCH₃) apresentou correlação com o sinal do hidrogênio aromático em δ 6,35 ppm (H-2). Entretanto, a irradiação do sinal em δ 6,39 (H-6) não apresentou correlação com outros sinais, confirmando, a substância 1-alil-3-metoxi-4,5-metilenodioxibenzeno conhecida como miristicina.

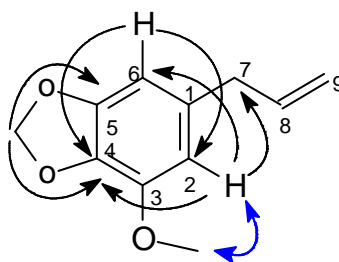


Figura 29. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOE 1D (azul) para PCR 1 .

Na família Piperaceae a miristicina foi isolada de *Piper solmsianum* (MARTINS *et al.*, 2000), *Piper regnellii* (BENEVIDES; SARTORELLI; KATO, 1999), *Peperomia campylotropa* (GARCIA *et al.*, 1990), *Piper aduncum* (PARMAR *et al.*, 1998) e de *Piper mullesua* a qual revelou atividade inseticida para *Spilarctia obliqua* (SRIVASTAVA *et al.*, 2001). Além disso, diferentes famílias já revelaram a presença desta substância, dentre estas, a miristicina foi isolada na família Apiaceae, de *Ligusticum scoticum* (MITSUHASHI *et al.*, 1959), *Ligusticum sinense* (LU *et al.*, 2010), *Ferula equisetacea* (BORISOV *et al.*, 1973), *Seseli webbii* (GONZALEZ *et al.*, 1982) e de *Todaroa aurea* subsp. *suaveolens* (GONZALEZ *et al.*, 1991). Na família Myristicaceae, foi isolada de *Myristica fragrans* (ZHAO; WANG; GAO, 2011), na família Aristolochiaceae, de *Asarum petelotii* (NGUYEN; NGUYEN; PHAN, 2007), na família Caesalpiniaceae de *Cassia grandis* (GONZALEZ; BERMEJO; VALENCIA, 1996) e na família Degeneriaceae, de *Degeneria vitiensis* (CAMBIE; LAL; PAUSLER, 1992).

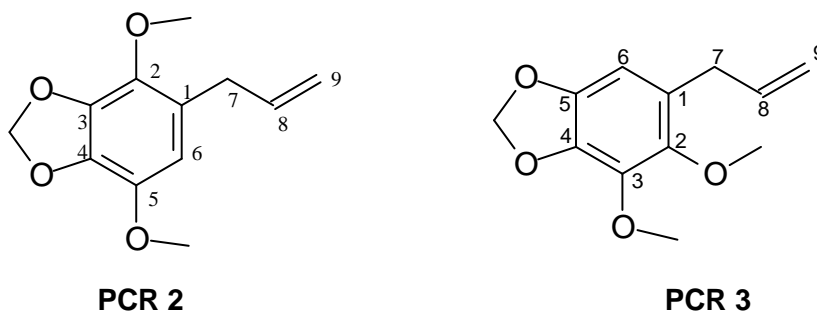
4.2.3.2 Determinação de **PCR 2** e **PCR 3**

Figura 30. Estrutura química de PCR 2 - apiol e PCR 3 - dilapiol.

As substâncias **PCR 2** e **PCR 3** (Figura 30) (Tabela 10) foram isoladas em mistura diretamente da fração F 9 da coluna de *P. cubataonum* apresentando-se como um óleo amarelado.

Tabela 10. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), mapa de contorno ^1H x ^1H NOESY e NOE para as substâncias PCR 2 (cinza) e PCR 3 (branco).

Posição	PCR 2 e 3 ^{13}C (δ) ^a	Apiol e dilapiol ^{13}C (δ) ^{b,c}	PCR 2 e 3 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Apiol e dilapiol ^1H (δ) ^{b,c} (mult., J em Hz)	^{LD} J _{H-C}	NOESY e NOE
1	125,7*	110,8				
2	136,3	136,5				
3	138,7	139,0				
4	135,2	135,2				
5	139,1	139,2				
6	108,4	108,5	6,30 (s; 1H)	6,31 (s; 1H)	2, 4, 5, 7	5-OCH ₃ , 7
7	33,9*	34,3	3,30 (dd; 6,6; 1,4; 2H)	3,31 (dm; 6,4; 2H)	1, 2, 6, 8, 9	6, 8, 9
8	137,6	137,6	5,93 (m; 1H)	5,94 (m; 1H)		9
9	115,3*	115,6	5,02 (m; 1H) 5,05 (m; 1H)	5,05 (m; 2H)	7	7, 8
OCH ₂ O	101,5	101,7	5,93 (s; 2H)	5,96 (s; 2H)	3, 4	9
2-OCH ₃	60,0	60,4	3,87 (s; 3H)	3,88 (s; 3H)	2	
5-OCH ₃	56,8	57,1	3,83 (s; 3H)	3,86 (s; 3H)	5	6
1	126,0*	126,0				
2	144,3	144,6				
3	137,6	137,6				
4	136,0	135,1				

5	144,6	144,3				
6	102,7	102,7	6,34 (s; 1H)	6,23 (s; 1H)	2, 4, 7	7
7	34,1*	33,9	3,30 (dd; 6,6; 1,4; 2H)	3,23 (dd; 6,6; 1,5; 2H)	1, 2, 6, 8, 9	2-OCH ₃ , 8, 9
8	137,4	137,4	5,93 (m; 1H)	5,81 (m; 1H)		9
9	115,5*	115,5	5,02 (m; 1H) 5,05 (m; 1H)	4,96 (dd; 9,0; 1,5; 1H) 4,97 (dd; 15,4; 1,5; 1H)	7, 8	7, 8
OCH ₂ O	101,1	101,1	5,86 (s; 2H)	5,88 (s; 2H)		
2-OCH ₃	61,2	61,3	3,75 (s; 3H)	3,78 (s; H)	2	3-OCH ₃ , 7
3-OCH ₃	59,9	59,9	4,01 (s; 3H)	3,80 (s; 3H)	3	2-OCH ₃

^aExperimento realizado a 400 MHz para ¹H, HMBC, NOE e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃. ^bSANTOS, B. V. O. *et al.* Phenylalkanoids from *Piper marginatum*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 5, p.1381-1384, 1998. ^cBENEVIDES, P. J. C.; SARTORELLI, P., KATO, M. J. Phenylpropanoids and neolignans from *Piper regnellii*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 339-343, 1999. *Deslocamentos dos sinais podem estar trocados.

A análise do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C (Anexo 1 – Espectro 20 e 21 – pg. 180 e 181) apresentou características semelhantes ao alilfenol PCR 1, porém neste caso, por ser uma mistura, com os sinais duplicados, como observado nos dois sinais característicos dos hidrogênios do grupo metilenodioxí em δ 5,86 e δ 5,93 ppm que correlacionam no mapa de correlação direta ¹H-¹³C (Anexo 1 – Espectro 22 – pg. 181), com o sinal do carbono em δ 101,1 e δ 101,5 ppm, respectivamente. Observa-se ainda diferenças de PCR 1, pela presença de duas novas metoxilas (uma de cada substância) em δ 3,75 ppm e δ 3,87 ppm.

Através da análise mapa de correlação ¹H-¹³C a longa distância HMBC (Anexo 1 – Espectro 23 – pg. 182) (Figura 31), foi possível determinar as correlações corretas entre os grupos metilenodioxí e anel aromático. O sinal em δ 6,30 ppm (H-6 – **PCR 2**) mostrou correlação a J³ com os sinais em δ 136,3 (C-2) e 135,2 ppm (C-4). Nesta substância, o grupo metilenodioxí δ 5,93 correlacionou a J³ com 138,7 (C-3) e 135,2 ppm (C-4). Para **PCR 3**, é possível observar a correlação do sinal em δ 6,34 ppm (H-6) a J³ com os sinais em δ 144,3 (C-2) e δ 136,0 ppm (C-4) e o grupo metilenodioxí em δ 5,86 correlacionou a J³ com δ 136,0 (C-4) e 144,6 ppm (C-5).

A localização dos grupos metoxilas e hidrogênios aromáticos foi confirmada pela análise de NOE 1D e NOESY (Anexo 1 – Espectro 24 e 25 – pg. 182 e 183) (Figura 31), em que a irradiação do sinal em δ 3,83 (5-OCH₃) apresentou correlação com o sinal em δ 6,30 (H-6), para **PCR 2**. Para **PCR 3**, a irradiação do sinal em δ 3,75 (2-OCH₃) apresentou correlação com o sinal em δ 4,01 (3-OCH₃), desta forma para **PCR 2** atribuiu-se a substância 1-alil-2,5-dimetoxi-3,4-metilenodioxí-benzeno conhecido como apiol e

para **PCR 3** a substância 1-alil-2,3-dimetoxi-4,5-metilenodioxibenzeno conhecido como dilapiol.

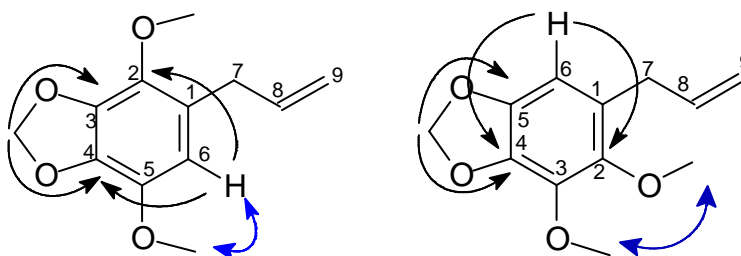


Figura 31. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOE 1D (azul) para PCR 2 e PCR 3.

De diversas famílias já foram isolados apiol e dilapiol, em misturas ou separadamente. Na família Piperaceae, o apiol foi isolado de *Piper fulvescens* (GARCIA VEGA *et al.*, 2001), *Piper solmsianum* (MARTINS *et al.*, 2000), *Piper regnellii* (BENEVIDES; SARTORELLI; KATO, 1999), *Piper argyrophyllum* (GUPTA *et al.*, 1999), *Piper marginatum* (SANTOS *et al.*, 1998), *Piper brachystachyum* (SINGH; ATAL, 1969), *Piper schmidtii* (TYAGI *et al.*, 1993) e em *Peperomia pellucida* (MANALO *et al.*, 1983; BAYMA *et al.*, 2000). Além disso, o apiol foi isolado em espécies da família Apiaceae, como *Todaroa aurea* subsp. *suaveolens* (GONZALEZ *et al.*, 1991), *Elaeoselinum tenuifolium* (GRANDE; SEGURA; MANCHENO, 1986), *Heracleum pyrenaicum* (GONZALEZ *et al.*, 1978) e em *Ligusticum hultenii*, em que revelou atividade contra o cupim *Coptotermes formosanus* (MEEPAGALA *et al.*, 2006). Em *Petroselinum sativum*, o apiol isolado apresentou atividade acaricida (SONG *et al.*, 2011), além disso, estudos de Razzaghi-Abyaneh (2007) revelou que tanto o apiol (isolado de *Petroselinum sativum*) quanto o dilapiol (isolado de *Anethum graveolens*) inibem a aflatoxina G1 produzida por *Aspergillus parasiticus*. Esta substância também foi isolada na família Aristolochiaceae, de *Asarum petelotii* (NGUYEN; NGUYEN; PHAN, 2007), na família Degeneriaceae, de *Degeneria vitiensis* (CAMBIE; LAL; PAUSLER, 1992) e da alga *Spatoglossum variabile* (família Dictyotaceae) (ATTAR-UR-RAHMAN *et al.*, 1999).

O dilapiol também já foi identificado de espécies da família Piperaceae, como em *Piper fulvescens* (GARCIA VEGA *et al.*, 2001), *Piper solmsianum* (MARTINS *et al.*, 2000), *Piper regnellii* (BENEVIDES; SARTORELLI; KATO, 1999), *Peperomia pellucida* (MANALO *et al.*, 1983; BAYMA *et al.*, 2000), *Piper aduncum* (PARMAR *et al.*, 1998), *Piper banksii* (LODER; NEARN, 1972), *Piper pedicellosum* (AHMAD; KADIR, 2000) e em *Piper auritum* (NAIR; SOMMERVILLE; BURKE, 1989). Além disso, foi identificado em espécies da família Campanulaceae, em *Codonopsis cordifolioides* (HU *et al.*, 2012), da família Apiaceae de *Foeniculum vulgare* (ZHANG *et al.*, 2011), da família Lamiaceae de *Perilla frutescens* (HONDA; KOEZUKA; TABATA, 1988) e da família Lauraceae de *Licaria canella* (GIESBRECHT *et al.*, 1974).

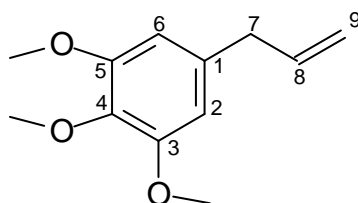
4.2.3.3 Determinação de **PCR 4**

Figura 32. Estrutura química de PCR 4 - elemicina.

A substância **PCR 4** (Figura 32) (Tabela 11) foi isolada da fração F 13 (4) C de *P. cubataonum* apresentando-se como um óleo amarelado.

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) para a substância PCR 4.

Posição	PCR 4 ^{13}C (δ) ^a	Elemicina ^{13}C (δ) ^b	PCR 4 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Elemicina ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	^{LD} J _{H-C}
1	135,8	136,4			
2, 6	105,4	105,6	6,41 (s; 2H)	6,42 (s; 2H)	2, 3, 4, 5, 6, 7
3, 5	153,2	153,0			
4	136,3	136,0			
7	40,5	40,8	3,34 (dd; 6,6; 1,4; 2H)	3,34 (d; 6,7; 2H)	1, 2, 6, 8, 9
8	137,2	137,2	5,96 (ddt; 17,0; 10,1; 6,7; 1H)	5,97 (m; 1H)	7
9	116,0	116,0	5,09 (m; 1H) 5,14 (m; 1H)	5,10 (m; 2H)	7, 8
3-OCH ₃ / 5-OCH ₃	56,0	56,0	3,85 (s; 6H)	3,86 (s; 6H)	3, 5
4-OCH ₃	60,9	60,8	3,83 (s; 3H)	3,83 (s; 3H)	4

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H , HMBC e 50 MHz para ^{13}C em CDCl_3 . ^bGARCEZ. F. R.; *et al.* Fenilpropanoides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p.407-411, 2009.

A análise do espectro RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 – Espectro 26 e 27 – pg. 183 e 184) apresentou características semelhantes ao alilfenol PCR 1, porém diferencia-se pela ausência do sinal característico dos hidrogênios do grupo metilenodioxi e pela presença de três metoxilas, sendo uma em δ 3,83 ppm (3H) e as outras duas em δ 3,85 ppm (6H), indicando possivelmente a presença de uma molécula simétrica.

A análise do mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C e do mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (Anexo 1 – Espectro 28 e 29 – pg. 184 e 185) (Figura 33), permitiu determinar as correlações corretas entre as metoxilas e anel aromático. O sinal em δ 6,41 ppm (H-2; H-6) com integração para dois hidrogênios, mostrou correlação a J^3 com os sinais em δ 105,4 (C-2; C-6), 136,3 (C-4), e 40,5 ppm (C-7) e a J^2 com 153,2 (C-3), confirmando para **PCR 4** a estrutura de 1-alil-3,4,5-trimetoxibenzeno conhecida na literatura como elemicina.

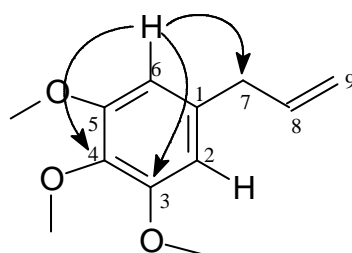


Figura 33. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância para PCR 4.

A elemicina também está presente em diversas famílias. Na família Piperaceae, a elemicina foi encontrada em *Piper futokadsura* (KONISHI *et al.*, 2005), *Piper solmsianum* (MARTINS *et al.*, 2000), *Piper lenticellosum* (DIAZ; RAMOS; MATTA, 1986), *Piper banksii* (LODER; NEARN, 1972), e em *Piper brachystachyum* (PARMAR *et al.*, 1998).

Além disso, a elemicina foi isolada na família Myristicaceae, em *Myristica fragrans* (ZHAO *et al.*, 2012), *Myristica argentea* (ZHANG *et al.*, 2011a) e em *Virola surinamensis* (BARATA *et al.*, 1978). Na família Lauraceae, em *Nectandra megapotamica* (GARCEZ *et al.*, 2009) e em *Licaria canella* (GIESBRECHT *et al.*, 1974). Além disso, na família Aristolochiaceae isolou-se em *Asiasarum heterotropoides* (MIYAZAWA; KOHNO, 2005) e em *Asiasarum sieboldi* (HASHIMOTO *et al.*, 1994), na família Smilacaceae, em *Smilax roxburghiana* (AFROZE *et al.*, 2004), na família Euphorbiaceae, em *Bridelia retusa* (JAYASINGHE *et al.*, 2003), na família Apiaceae, em *Thapsia villosa* (MENDEZ, 2002), em *Ferula communis* (AL-YAHYA *et al.*, 1998), em *Anthriscus sylvestris* (IKEDA *et al.*, 1998), em *Diplolophium buchanani* (MARSTON; HOSTETTMANN; MSONTHI, 1995) e em *Todaroa aurea* subsp. *suaveolens* (GONZALEZ *et al.*, 1991). Na família Asteraceae a miristicina foi isolada em *Chrysanthamnus viscidiflorus* (LE-VAN; PHAM, 1980), na família Euphorbiaceae, em *Croton nepetaefolius* (MOURA; MONTE; BRAZ FILHO, 1990), na família Hernandiaceae, em *Sparattanthelium amazonum* (BRAVO; SAUVAIN, 2002), na família de Anonaceae, em *Uvariadendron connivens* (MOHAMMAD; WATERMAN; THOMAS, 1985), na família Amaryllidaceae de *Proiphys amboinensis* (CHUAH; YONG; GOH, 1997) e ainda da planta aquática *Micranthemum umbrosum* (Scrophulariaceae) (PARKER *et al.*, 2006).

4.2.4 Determinação estrutural das lignanas

4.2.4.1 Determinação de **PCR 5**

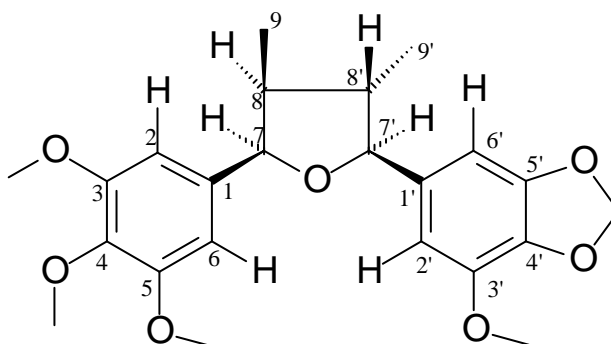


Figura 34. Estrutura química de PCR 5.

A substância **PCR 5** (Figura 34) (Tabela 12) foi isolada da fração F 16-19 C (F) de *P. cubataonum*, apresentando-se como um óleo amarelado.

Tabela 12. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 5.

Posição	PCR 5 $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ (δ) ^a	Literatura ^{13}C (δ) ^b	PCR 5 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Literatura ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$	NOESY
1	136,6	137,0				
2, 6	104,4	104,5	6,55 (s; 2H)	6,48 (s)	2, 3, 4, 5, 6, 7	OCH_3 (3/ 5), 7
3, 5	152,8	152,8				
4	136,7	136,6				
7	83,5	83,2	5,09 (d; 8,5; 1H)	5,02 (d; 8,5)	1, 2, 6, 8, 9	2, 6, 8, 7'
8	46,8	45,8	2,24 (ddq; 9,3; 8,5; 7,0; 1H)	2,16 (m)	1, 9	7, 9, 7', 9'
9	15,1	15,0	0,69 (d; 7,0; 3H)	0,61 (d; 7,5)	7, 8, 8'	2, 6, 8, 8'
1'	n.o.	135,4				
2'	107,8	106,6	6,69 (d; 1,3; 1H)	6,61 (s)	4', 5', 6', 7'	OCH_3 (3'), 7'
3'	143,5	143,4				
4'	134,6	134,6				
5'	148,9	149,0				
6'	100,7	100,3	6,73 (d; 1,3; 1H)	6,65 (s)	2', 4', 5', 7'	7'
7'	87,6	87,3	4,38 (d; 9,2; 1H)	4,30 (d; 9,0)	2', 6', 9'	7, 8, 2', 9'
8'	48,3	47,8	1,76 (ddq; 9,3; 9,2; 6,6); 1H	1,68 (m)	8, 7', 9'	9, 9'

9'	15,2	14,8	1,08 (d; 6,6; 3H)	1,01 (d; 6,5)	8, 7', 8'	8, 7', 8'
OCH ₃ (3/5)	56,5	56,0	3,85 (s; 6H)	3,77 (s)	3, 5	2, 6
OCH ₃ (4)	56,2	60,7	3,84 (s; 3H)	3,76 (s)	4	
OCH ₃ (3')	56,9	56,6	3,92 (s; 3H)	3,85 (s)	3'	2'
OCH ₂ O	101,7	101,3	5,97 (s; 2H)	5,89 (s)	4',5'	

^aExperimento realizado a 400 MHz para ¹H, HSQC, HMBC e NOESY em CDCl₃. FELIPPE, L. *et al.* Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 2, p. 445-450, 2007.

Através da análise do espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 30 – pg. 185) foi possível observar sinais característicos de alilfenóis, todavia observou-se também os sinais dos hidrogênios oxobenzil metinos em δ 4,38 ppm (d; 9,2; H-7') e δ 5,09 ppm (d; 8,5; H-7) e as duas metilas em δ 0,69 (d; 7,0; H-9) e δ 1,08 ppm (d; 6,6; H-9'), sugerindo ser uma lignana assimétrica tetraidrofurânica (MARTINS *et al.*, 2000). A presença de quatro metoxilas, em δ 3,84 (OCH₃ – 6H), δ 3,85 (3H) e δ 3,92 ppm (3H) e do grupo metilenodioxí em δ 5,97 ppm, bem como dos hidrogênios aromáticos em δ 6,55 ppm (s; 2H), δ 6,69 ppm (d; 1,3; 1H) e δ 6,73 (d; 1,3; 1H), permitiu determinar o padrão de substituição dos anéis benzênicos, sendo 3,4,5,-trimetoxifenil e 3'-metoxi-4',5'-metilenodioxifenil (MARTINS *et al.*, 2000).

Pela análise do mapa de correlação direta ¹H-¹³C (Anexo 1 – Espectro 31 – pg. 186), foi possível determinar as correlações diretas dos hidrogênios oxobenzil metinos: em δ 4,38 (H-7') com seu respectivo carbono em δ 87, 6 ppm e de δ 5,09 (H-7) com C-7 em δ 83,5 ppm. A análise do mapa de correlação ¹H-¹³C a longa distância (Anexo 1 – Espectro 32 – pg. 186) mostrou a correlação de δ 4,38 (H-7') a J³ com δ 107,8 ppm (C-2'), δ 100,7 ppm (C-6') e δ 15,2 ppm (C-9'), confirmado a posição do anel 3'-metoxi-4',5'-metilenodioxifenil, deste lado da estrutura. Além disso, o hidrogênio em δ 5,09 ppm (H-7) apresentou correlação a J³ com δ 104,4 ppm (C-2 e C-6) o qual está diretamente ligado a δ 6,55 ppm, um simpleto com integração para dois hidrogênios, revelando tratar-se do substituinte aromático 3,4,5,-trimetoxifenil.

O anel tetraidrofurano das 7,7' epoxilignanas apresenta quatro centros estereogênicos, existindo 16 possíveis isômeros, que correspondem a 8 possíveis diastereoisômeros (Figura 35), mas se os substituintes em 7 e 7' forem iguais, este número se reduz para seis, já que a estruturas 44 e 45 seriam iguais, assim como 46 e 47 (FELICIANO; PÉREZ; OLMO, 2007).

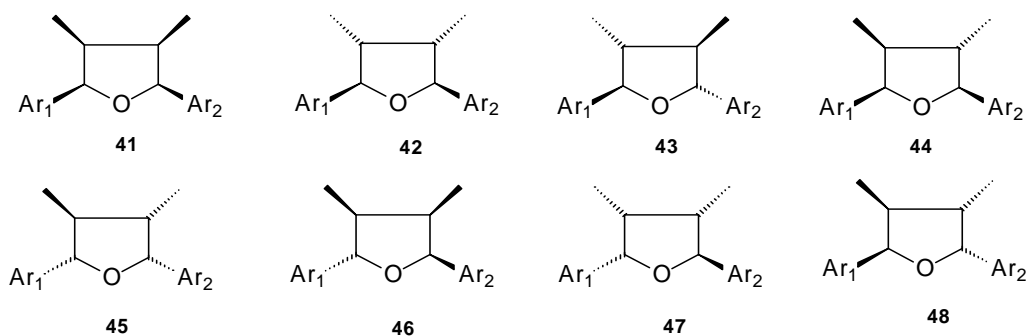


Figura 35. Possibilidades de diastereoisômeros de 7,7'-epoxilignanas (41-48).

Na investigação da estrutura PCR5, se elimina facilmente as formas *meso* (41 e 42) e o isômero *trans*(H-7/H-8)-*trans*(H-8/H-8')-*trans*(H-8'/H-7')-*trans*(H-7/H-7') (43), os quais apresentam apenas um sinal para H-7 e H-7', um para H-8 e H-8' e outro para H-9 e H-9' (FELICIANO; PÉREZ; OLMO, 2007). Dentre as demais possibilidades, a configuração relativa para PCR 5 foi determinada com o auxílio do experimento de NOESY (Anexo 1 – Espectro 33 e 34 – pg. 187) (Figura 36), através deste, a irradiação de δ 5,09 ppm (H-7), apresentou correlação mútua com H-8 e H-7', sendo proposta a relação *sin* entre H-7/H-8 e entre H-7/H-7'. A irradiação do hidrogênio em δ 2,24 ppm (H-8) apresentou correlação espacial com H-9, H-9', H-7 e H-7', não apresentando correlação com o hidrogênio em H-8', o que nos faz propor a configuração *trans* entre H-8 e H-8'. A irradiação de δ 1,76 ppm (H-8'), não apresenta correlação com H-8, nem com H-7', revelando apenas correlação espacial com as metilas em H-9 e H-9'. Através destes dados é possível atribuir a configuração *trans* para H-8' e H-7', a qual é confirmada pela irradiação de 4,38 ppm (H-7'), onde é possível observar correlação com H-9', H-8 e H-7, porém não há correlação com H-8.

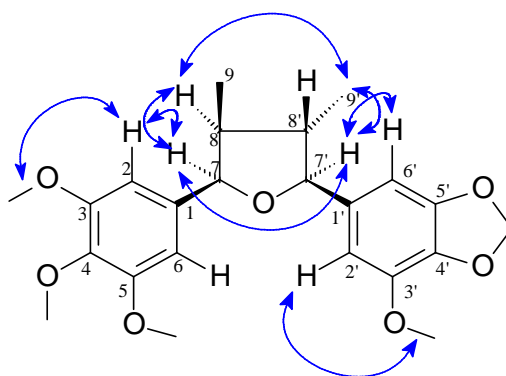


Figura 36. Principais correlações observadas no experimento de NOESY para PCR 5 .

Desta forma, os dados permitiram atribuir para **PCR 5** a configuração relativa *cis*(H-7/H-8)-*trans*(H-8/H-8')-*trans*(H-8'-H-7'), sendo identificada como *rel*-(7*R*,8*S*,7'*S*,8'*S*)-4',5'-metilenodioxo-3,4,5,3'-tetrametoxi-7,7'-epoxilignana.

As lignanas são uma classe de metabólitos secundários frequentemente encontrados em Piperaceas, dentre elas, as tetraidrofurano lignanas (PARMAR *et al.*, 1997). Entretanto, a estrutura de **PCR 5**, com a estereoquímica relativa e padrão de substituição, não foi descrita no gênero *Piper*, sendo encontrada na família Piperaceae apenas no estudo de Felipe *et al.*, (2007) na espécie *Peperomia blanda*. Diastereoisômeros de PCR 5, já foram descritos nas espécies *Beilschmiedia tsangii* (Lauraceae) (CHEN *et al.*, 2006), *Virola sp.* (TEIXEIRA *et al.*, 2009) e na família Piperaceae, em *Piper solmsianum* (MARTINS *et al.*, 2000).

4.2.4.2 Determinação de **PCR 6**

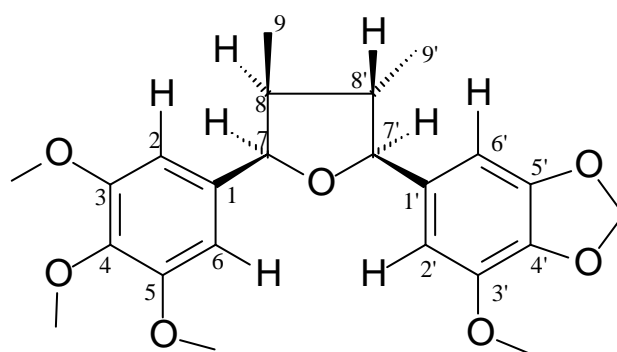


Figura 37. Estrutura química de PCR 6 - epigrandisina.

A substância **PCR 6** (Figura 37) (Tabela 13) foi isolada da fração F 25 G de *P. cubataonum*, apresentando-se como um óleo amarelado.

Tabela 13. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 6.

Posição	PCR 6 $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ (δ) ^a	Epigrandisina ^{13}C (δ) ^b	PCR 6 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Epigrandisina ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	HMBC $^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$	NOESY
1	136,7					
2, 6	104,0	104,2	6,56 (s; 2H)	6,56 (s; 2H)	2, 3, 4, 5, 6, 7	OCH_3 (3/ 5), 7
3, 5	152,7					
4	137,1					
7	83,2	83,3	5,12 (d; 8,5; 1H)	5,11 (d; 8,7; 1H)	1, 2, 6, 8	2, 6, 8, 7'
8	46,0	46,1	2,26 (ddq; 9,2; 8,5; 6,9; 1H)	2,26 (m; 1H)	1, 9, 8'	7, 9, 7', 9'
9	14,7	14,4	0,70 (d; 6,9; 3H)	0,70 (d; 7,1; 3H)	7, 8, 8'	8, 8'
1'	*n.o.					

2', 6'	103,3	103,6	6,75 (s; 1H)	6,75 (s; 1H)	2', 3', 4', 5', 6', 7'	OCH ₃ (3'/5'), 7', 8'
3', 5'	153,2					
4'	137,4					
7'	87,2	87,4	4,43 (d; 9,1; 1H)	4,43 (d; 9,1; 1H)	2', 6', 8', 9'	7, 8, 2', 6', 9'
8'	47,6	47,9	1,80 (ddq; 9,2; 9,1; 6,6); 1H	1,80 (m; 1H)	7', 9'	9, 9'
9'	15,0	14,9	1,12 (d; 6,5; 3H)	1,12 (d; 6,6; 1H)	8, 7', 8'	8, 7', 8'
OCH ₃ (3/ 5)	55,5	56,1	3,84 (s; 6H)	3,84 (s; 6H)	3, 5	2, 6
OCH ₃ (4)	60,6	60,9	3,84 (s; 3H)	3,83 (s; 3H)	4	
OCH ₃ (3'/5')	55,6	56,1	3,88 (s; 6H)	3,88 (s; 6H)	3', 5'	2', 6'
OCH ₃ (4')	55,4	60,9	3,86 (s; 3H)	3,86 (s; 3H)	4'	

^aExperimento realizado a 400 MHz para ¹H, HSQC, HMBC, NOESY em CDCl₃. ^bGREGER, H. *et al.* Infrspecific Variation of Sulfur-Containing Bisamides from *Aglaia leptantha*. **Journal of Natural Product**, v. 63, p. 616-620, 2000.

Através da análise do espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 35 – pg. 188) foi possível observar sinais semelhantes a PCR 5, verificando a presença dos sinais característicos de uma lignana assimétrica tetraidrofurânica, sendo os hidrogênios oxobenzil metinos em δ 4,43 (d; 9,1; H-7') e δ 5,12 ppm (d; 8,5; H-7) e as duas metilas em δ 0,70 (d; 6,9; H-9) e δ 1,12 ppm (d; 6,5; H-9').

A diferença apresentada na PCR 6 em relação a lignana anterior, ocorre no padrão de substituição do anel aromático. Neste caso, observa-se a presença de seis grupos metoxilas: em δ 3,84 (OCH₃ – 6H), δ 3,84 (3H) δ 3,86 (3H) e δ 3,88 ppm (6H), além disso, o sinal do grupo metilenodioxí não é observado. Desta forma, para PCR 6, o padrão de substituição dos anéis benzênicos, é 3,4,5,3',4',5'-hexametoxi-7,7'-epoxilignana.

Pela análise dos mapas de correlação direta ¹H-¹³C e de correlação ¹H-¹³C a longa distância (Anexo 1 – Espectro 36 e 37 – pg. 188 e 189) foi possível observar a correlação do sinal em δ 4,43 ppm (H-7') a J³ com δ 103,3 ppm (C-2' e C-6'), o qual está diretamente ligado a δ 6,75 ppm. Observa-se ainda, a correlação de δ 5,12 ppm (H-7) a J³ com δ 104,0 ppm (C-2 e C-6) o qual está diretamente ligado a δ 6,56 ppm.

Com auxílio no experimento de NOESY (Anexo 1 – Espectro 38 – pg. 189) foi possível determinar a localização precisa das metoxilas e a configuração relativa, sendo determinada a mesma estereoquímica relativa atribuída a PCR 5, sendo a configuração relativa *cis*(H-7/H-8)-*trans*(H-8/H-8')-*trans*(H8'-H-7'). Desta forma, a substância **PCR 6**, foi

identificada como *rel*-(7*R*,8*S*,7'*S*,8'*S*)-3,4,5,3',4',5'-hexametoxi-7,7'-epoxilignana, conhecida na literatura como epigrandisina.

Segundo as bases de dados utilizadas a Web of Science e Scifinder, a epigrandisina já foi registrada em diversas espécies de diferentes famílias, porém esta é a primeira vez que está sendo descrita na família Piperaceae.

Dentre as famílias, destaca-se nas espécies *Eupomatia bennettii* (Eupomatiaceae) (CARROLL; TAYLOR, 1991), *Virola sp.* (Myristicaceae) (TEIXEIRA *et al.*, 2009), *Bonamia spectabilis* (Convolvulaceae) (KRAFT *et al.*, 2002), *Saururus chinensis* (Saururaceae) (CUI *et al.*, 2013), *Rhaphidophora decursiva* (Araceae) (ZHANG *et al.*, 2001) e *Aglaiia leptantha* (Meliaceae) (GREGER *et al.*, 2000).

4.2.5 Determinação estrutural das aristolactamas

4.2.5.1 Determinação de **PCR 7**

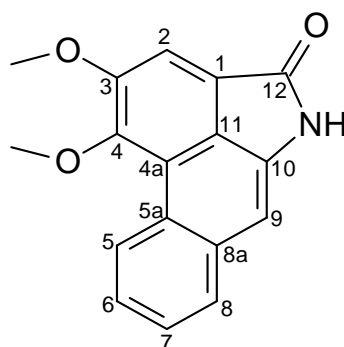


Figura 38. Estrutura química de PCR 7 – cefaranona B.

A substância **PCR 7** (Figura 38) (Tabela 14) foi isolada da fração F 27 A e F 28 A de *P. cubataonum*, apresentando-se como um sólido amarelo.

Tabela 14. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância PCR 7.

Posição	PCR 7 $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ (δ) ^a	Cefaranona B ^{13}C (δ) ^b	PCR 7 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Cefaranona B ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$	NOESY
1	121,1	121,2				
2	109,9	110,2	7,83 (s; 1H)	7,76 (s; 1H)	1, 3, 4, 11, 12	OCH ₃ (3)
3	154,4	154,9				
4	151,5	151,4				
4 ^a	n.o	122,8				
5	128,0	127,9	9,25 (m; 1H)	9,18 (m; 1H)	7	OCH ₃ (4), 6
5 ^a	127,0	127,3				

6	126,2	125,8	7,58 (m; 1H)	7,53 (m; 1H)		5
7	127,8	128,0	7,58 (m; 1H)	7,53 (m; 1H)		
8	129,3	129,3	7,83 (m; 1H)	7,76 (m; 1H)	6	9
8 ^a	n.o	131,4				
9	106,0	105,1	7,09 (s; 1H)	7,11 (s; 1H)	5a, 8, 11	8
10	133,9	136,6				
11	124,3	124,9				
12	169,2	169,9				
NH			8,04 (sl; 1H)	8,82 (s; 1H)		
OCH ₃ (3)	57,1	56,8	4,08 (s; 3H)	4,01 (s; 1H)	3	2
OCH ₃ (4)	60,6	60,2	4,13 (s; 3H)	4,07 (s; 1H)	4	5

^aExperimento realizado a 400 MHz para ¹H, HSQC, HMBC, NOESY em CDCl₃. ^b KIM, K. H. *et al.* The chemical constituents of *Piper kadsura* and their cytotoxic and anti-neuroinflammatory activities. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 254-260, 2011 – para esta referência RMN de ¹H – CDCl₃ e para RMN de ¹³C piridina-d₅.

Através da análise do espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Espectro 39 – pg. 190) foi possível observar sinais de seis hidrogênios aromáticos, sendo o sinal em δ 7,58 ppm (m; 2H) correspondente a dois hidrogênios ligados a carbonos diferentes, confirmado pelo mapa de correlação direta ¹H-¹³C (Anexo 1 – Espectro 40 – pg. 190), o qual correlaciona com os carbonos em δ 126,2 (C-6) e em δ 127,8 ppm (C-7). O mesmo ocorre para o sinal em δ 7,83 ppm (m; 2H), o qual está ligado aos carbonos δ 109,9 ppm (C-2) e δ 129,3 ppm (C-8). Além disso, pode-se observar a presença de duas metoxilas aromáticas em δ 4,08 e δ 4,13 ppm.

Pela análise do mapa de correlação ¹H-¹³C a longa distância e NOESY (Anexo 1 – Espectro 41 e 42 – pg. 191), foi possível observar a correlação do hidrogênio em δ 7,83 ppm (H-2) a J³ com δ 121,1 (C-1), δ 124,3 (C-11), δ 154,4 (C-3), δ 151,5 (C-4) e δ 169,2 ppm (C-12). Este H-2 quando irradiado através do NOESY, apresentou correlação espacial com a metoxila em δ 4,08 ppm, a qual encontra-se ligada ao C-3 (δ 154,4 ppm). A metoxila em δ 4,13 ppm está ligada no carbono C-4 (δ 151,5 ppm) e quando irradiada apresentou correlação espacial com δ 9,25 ppm (H-5).

O hidrogênio em δ 9,25 ppm (H-5) apresenta correlação espacial com δ 7,58 ppm (H-6), e apresenta correlação a longa distância com δ 127,8 ppm (C-7). O hidrogênio em δ 7,83 ppm (H-8) apresenta correlação a J³ com δ 126,2 ppm (C-6) e correlação espacial mútua com δ 7,09 ppm (H-9), confirmando a aristolactama proposta na Figura 39.

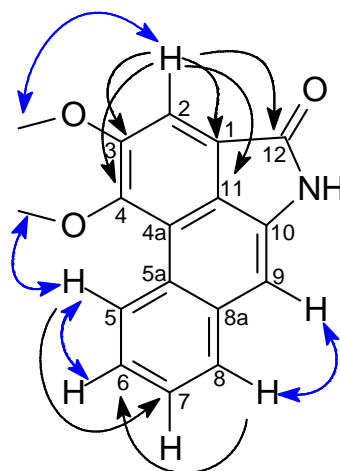
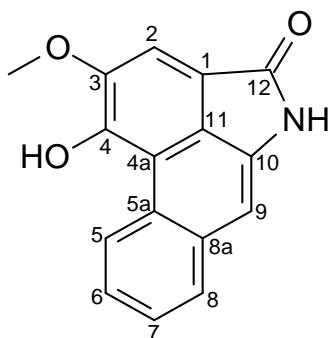


Figura 39. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOESY (azul) para PCR 7.

A análise por CLAE-EM para **PCR 7**, apresentou massa molecular de 279 Da, correspondente a fórmula $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ confirmando a substância como cefaranona B.

As aristolactamas fazem parte de um grupo de compostos, assim denominados por ser geralmente encontrada na família Aristolochiaceae. Elas também têm sido descritas nas espécies das famílias Annonaceae, Monimimaceae, Menispermaceae e Piperaceae (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003).

A cefaranona B, já foi registrada em diversas espécies pertencentes à família Piperaceae, dentre elas em *Ottonia anisum* (MARQUES *et al.*, 2011), *Piper marginatum* (CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006), *Piper chiadoense* (PENA; DIAZ, 1995), *Piper submultiverne* (NOBATHIAN *et al.*, 2012), *Piper wallichii* (WEI *et al.*, 2011), *Piper lolot* (LI *et al.*, 2007), *Piper arborescens* (TSAI *et al.*, 2005), *Piper sanctum* (MATA *et al.*, 2004), *Piper taiwanense* (CHEN *et al.*, 2004), *Piper boehmeriaefolium* var. *tonkinense* (ZHANG; WEI; CHEN, 1999), *Piper tuberculatum* (ARAÚJO JÚNIOR *et al.*, 1999), *Piper augustum* (DELGADO; AUVELLA; DE DIAZ, 1998), *Piper argyrophylum* (SINGH *et al.*, 1996), *Piper wightii* (BOLL *et al.*, 1996), *Piper chiadoense* (PENA; DIAZ., 1995), *Piper longum* (DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988), *Piper attenuatum* (DESAI *et al.*, 1989), *Piper betle* (LIN *et al.*, 2013) e em *Piper umbelatum* (TABOPDA *et al.*, 2008).

4.2.5.2 Determinação de **PCR 8**Figura 40. Estrutura química de **PCR 8** – piperolactama A.

A substância **PCR 8** (Figura 40) (Tabela 15) foi isolada da fração F 33-35 (4) A de *P. cubataonum*, apresentando-se como um sólido amarelo.

Tabela 15. Dados de RMN de ^1H , mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC), mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) e NOESY para a substância **PCR 8**.

Posição	PCR 8 $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ (δ) ^a	PCR 8 ^1H (δ) ^a (mult., J em Hz)	Piperolactama A ^1H (δ) ^b (mult., J em Hz)	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$	NOESY
1	n.o				
2	107,1	7,77 (s; 1H)	7,61 (s; 1H)	4, 11, 12	OCH ₃ (3)
3	147,1				
4	148,4				
4 ^a	n.o				
5	127,8	9,23 (m; 1H)	9,10 (m; 1H)		6
5 ^a	127,1				
6	125,4	7,59 (m; 1H)	7,56 (m; 1H)		5
7	126,9	7,59 (m; 1H)	7,56 (m; 1H)		8
8	128,6	7,83 (m; 1H)	7,93 (m; 1H)	6	7, 9
8 ^a	n.o				
9	105,5	7,11 (s; 1H)	7,08 (m; 1H)	5a, 8, 11	8
10	n.o.				
11	125,3				
12	169,2				
NH		7,70 (sl; 1H)	10,30 (s; 1H)		
OCH ₃ (3)	57,2	4,13 (s; 3H)	4,01 (s; 1H)	3	2

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H , HSQC, HMBC, NOESY em CDCl₃. ^b KIM, K. H. *et al.* The chemical constituents of *Piper kadsura* and their cytotoxic and anti-neuroinflammatory activities. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 254-260, 2011 – para esta referência RMN de ^1H – DMSO-d₆.

Através da análise do espectro de RMN de ^1H (Anexo 1 – Espectro 43 – pg. 192), foi possível observar sinais semelhantes a **PCR 7**, com o mesmo padrão de substituição

do sistema de anéis aromáticos. A alteração pode ser observada na substituição da metoxila presente em C-4 em PCR 7 por uma hidroxila, em PCR 8.

A análise dos mapas de correlação direta ^1H - ^{13}C e de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância e NOESY (Anexo 1 – Espectro 44, 45 e 46 – pg. 192 e 193), revelou a ligação da metoxila em δ 4,13 ppm no carbono C-3. Esta metoxila quando irradiada no experimento de NOESY apresentou correlação espacial com δ 7,77 ppm (H-2) (Figura 41).

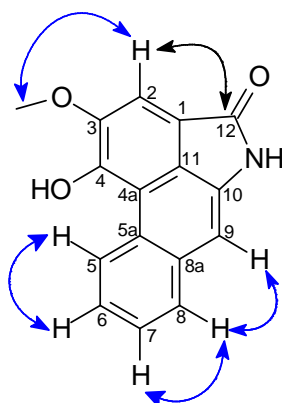


Figura 41. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância HMBC (preto) e experimentos de NOESY (azul) para PCR 8.

A análise por CLAE-EM para **PCR 8**, apresentou massa molecular de 265 Da, correspondente a fórmula $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ confirmando a aristolactama denominada piperolactama A.

A piperolactama A, também já foi descrita em diversas espécies pertencentes à família Piperaceae, dentre elas em *Piper submultinerve* (NOBATHIAN *et al.*, 2012), *Piper kadsura* (KIM *et al.*, 2011), *Piper longum* (LIU *et al.*, 2009), *Piper nigrum* (EE *et al.*, 2008), *Piper lolot* (LI *et al.*, 2007), *Piper philippinum* (CHEN; LIAO; CHEN; 2007), *Piper marginatum* (CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006), *Piper sanctum* (MATA *et al.*, 2004), *Piper taiwanense* (CHEN *et al.*, 2004), *Piper argyrophyllum* (SINGH *et al.*, 1996), *Piper betle* (LIN *et al.*, 2013), *Piper boehmerifolium* (DESAI *et al.*, 1989), *Piper attenuatum* (DESAI *et al.*, 1989), *Piper hamiltonii* (DESAI *et al.*, 1989) e *Piper wightii* (BOLL *et al.*, 1996).

4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os extratos, óleos essenciais de *M. obtusa* e *P. cubataonum* e a aegelina foram submetidos a ensaios para verificar a sua atividade antimicrobiana. Os resultados da CIM (Concentração Inibitória Mínima) foram avaliados contra 11 microrganismos (10 bactérias e 1 fungo) e podem ser visualizados na Tabela 16.

Segundo Holetz *et al.* (2002), a atividade antimicrobiana para extratos pode ser considerada significativa quando a CIM $\leq 100 \mu\text{g mL}^{-1}$, moderada quando a CIM for entre $100\text{-}500 \mu\text{g mL}^{-1}$, fraca quando a CIM for entre $500\text{-}1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e inativo com CIM acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Desta forma, para *Manekia obtusa* o extrato éter de petróleo apresentou atividade antimicrobiana moderada para *E. faecium*. O extrato diclorometânico apresentou atividade forte para *C. albicans* sendo superior ao antifúngico de referência. Porém a aegolina (constituente majoritário deste extrato) não mostrou atividade antifúngica, sugerindo que talvez não seja ela responsável pela atividade antifúngica do extrato, podendo esta atividade estar relacionada a outra substância ou a um sinergismo entre diversas substâncias. Para os extratos de *Piper cubataonum*, todos se apresentaram inativos para os microrganismos testados.

Para óleos essenciais a classificação sugerida por Aligiannis *et al.* (2001), e utilizada por diversos autores (SARTORATTO *et al.*, 2004; DUARTE *et al.*, 2005; BRAGA *et al.*, 2007; MAGINA *et al.*, 2009), classifica a atividade antimicrobiana como forte para óleos essenciais que possuem CIM até $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, moderada para CIM de 600 a $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ e fraca para CIM acima de $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$, o que será adotado neste trabalho também.

Desta forma, o óleo essencial de *M. obtusa* apresentou uma importante atividade antimicrobiana, inibindo fortemente o crescimento de sete microrganismos sendo eles: *C. albicans*, *E. hirae*, *S. choleraecium*, *R. equi*, *M. luteus*, *S. aureus* e *S. epidermides*, destacando-se para *C. albicans* (CIM = $30 \mu\text{g mL}^{-1}$), sendo este valor de CIM inferior ao antifúngico utilizado como referência.

O óleo essencial das folhas e galhos de *P. cubataonum* apresentou atividade antimicrobiana forte (CIM 62 e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente) apenas para *R. equi*. Para as demais bactérias e para *C. albicans*, estes não apresentaram atividade significativa.

Tabela 16. Atividade antimicrobiana para os extratos, óleos essenciais de *M. obtusa* e *P. cubataonum* e de aegelina.

Amostras	Microrganismos – CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)										
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella choleraecium</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermides</i>
OEMO	600	30	*	300	1000	400	500	500	*	500	350
MOEP	1000	1000	500	*	1000	1000	900	*	*	*	*
MODC	*	30	*	*	*	*	*	*	*	*	*
MOET	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Aegelina	*	*	*	*	*	*	200	*	*	*	*
OEPCF	*	*	*	*	*	*	62	*	*	*	*
OEPCG	*	*	*	*	*	*	250	*	*	*	*
PCF	*	*	-	-	*	*	-	-	*	*	-
PCG	*	*	-	-	*	*	-	-	*	*	-
PCR	*	*	-	-	*	*	-	-	*	*	-
Ref.	20	50	70	120	40	60	40	50	850	20	40

*CIM >1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. OEMO = óleo essencial de *M. obtusa*; MOEP = *M. obtusa* extrato éter de petróleo; MODC= *M. obtusa* extrato diclorometânico; MOET = *M. obtusa* extrato etanólico; OEPCF = óleo essencial de *P. cubataonum* folhas; OEPCG = óleo essencial de *P. cubataonum* galhos; PCF = extrato metanólico de *P. cubataonum* folhas; PCG = extrato metanólico de *P. cubataonum* galhos; PCR = extrato metanólico de *P. cubataonum* raízes; Ref. = antimicrobianos de referência: nistatina para *C. albicans* e cloranfenicol para as bactérias.

4.4. ATIVIDADE CITOTÓXICA

Os extratos, óleos essenciais de *M. obtusa* e *P. cubataonum* e a aegelina foram submetidos a ensaios para verificar a sua atividade citotóxica. Os resultados da TGI (*Total Growth Inhibition* - Inibição Total do Crescimento) foram avaliados com dez linhagens de células tumorais humanas e podem ser visualizados na Tabela 17.

Segundo Fouche *et al.* (2006), a atividade citotóxica pode ser classificada em 4 categorias: inativa quando TGI > 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, atividade fraca quando TGI entre 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, atividade moderada quando TGI ocorre entre 6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e atividade potente quando TGI < 6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

De acordo com esta classificação, o extrato diclorometânico de *M. obtusa* apresentou uma atividade moderada para célula de glioma e fraca para melanoma, porém a aegelina, seu constituinte majoritário foi inativo para todas as células tumorais. O extrato éter de petróleo de *M. obtusa* apresentou atividade fraca para célula de glioma, ovário com fenótipo de resistência a múltiplas drogas, próstata e ovário. O óleo essencial das folhas e galhos de *P. cubataonum*, apresentou atividade fraca para células de ovário. Para as demais células os extratos e os óleos essenciais não apresentaram atividade significativa.

Tabela 17. Atividade citotóxica para os extratos, óleos essenciais de *M. obtusa*, *P. cubataonum* e da aegelina.

Amostras	Inibição Total do Crescimento ($\mu\text{g mL}^{-1}$)										
	2	u	m	a	7	4	p	o	h	k	v
Doxorubicina	0,46	1,3	1,2	>25	1,0	1,1	>25	3,6	9,5	>25	4,1
MOEP	43,0	51,1	>250	48,4	75,4	113,5	43,8	43,2	>250	>250	>250
MODC	13,6	42,3	73,8	162,4	102,7	89,9	>250	>250	>250	>250	138,1
MOET	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Aegelina	>250	-	>250	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	>250
OEPCF	89,2	-	71,7	90,1	89,8	118,0	-	19,3	99,7	>250	85,3
OEPCG	73,8	-	91,1	109,5	78,9	103,1	-	48,8	99,5	>250	132,9
PCF	>250	-	>250	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	>250
PCG	>250	-	>250	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	>250
PCR	>250	-	>250	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	>250

2 = U251 (glioma, SNC); u = UACC-62 (melanoma); m = MCF-7 (mama); a = NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplas drogas); 7 = 786-0 (rim); 4 = NCI-H460 (pulmão); p = PC-3 (próstata); o = OVCAR-3 (ovário); h = HT-29 (cólon); k = K562 (leucemia); v = VERO (rim, célula normal, macaco verde); Doxorubicina = Quimioterápico referência; MOEP = *M. obtusa* extrato éter de petróleo; MODC = *M. obtusa* extrato diclorometânico; MOET = *M. obtusa* extrato etanólico; OEPCF = óleo essencial de *P. cubataonum* folhas; OEPCG = óleo essencial de *P. cubataonum* galhos; PCF = extrato metanólico das folhas de *P. cubataonum*; PCG = extrato metanólico dos galhos de *P. cubataonum*; PCR = extrato metanólico das raízes de *P. cubataonum*.

4.5 SÍNTESE DE PRODUTOS NATURAIS

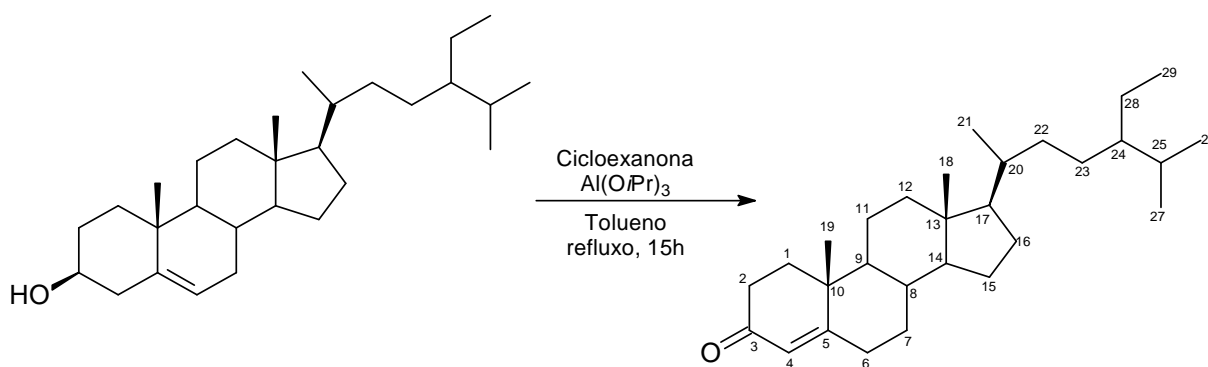
É um paradigma atual que os metabólitos secundários existem para aumentar a adaptação da planta que os produz. Geralmente, isso é realizado através de alguma função que esses compostos exercem na defesa das plantas contra herbívoros e patógenos. Estes constituintes estão sempre presentes em plantas, como misturas simples ou complexas de compostos (DYER *et al.*, 2004).

As espécies pertencentes à família Piperaceae são ricas em metabólitos secundários bioativos. Dentre os metabólitos isolados e/ou identificados, muitos são estruturalmente semelhantes a modelos já estudados em relação ao sinergismo dentro da ecologia química, especialmente as amidas (SCOTT *et al.*; 2002, DYER *et al.*, 2003, RICHARDS *et al.*, 2010).

Neste sentido, os constituintes isolados de *M. obtusa*, que não estão disponíveis comercialmente por um preço acessível, foram sintetizados através de metodologias conhecidas, com o objetivo de obter quantidade de amostra suficiente para ensaios inseticidas. Com o mesmo propósito, sintetizou-se a (*R*)-6'-desmetoxi aegelina.

4.5.1 SÍNTESE DE ESTIGMAST-4-EN-3-ONA

Para a síntese da estigmast-4-en-3-ona, realizou-se a oxidação de Oppenauer (Esquema 13) a partir de β -sitosterol, utilizando tri-isopropóxido de alumínio e ciclohexanona em tolueno como co-solvente.

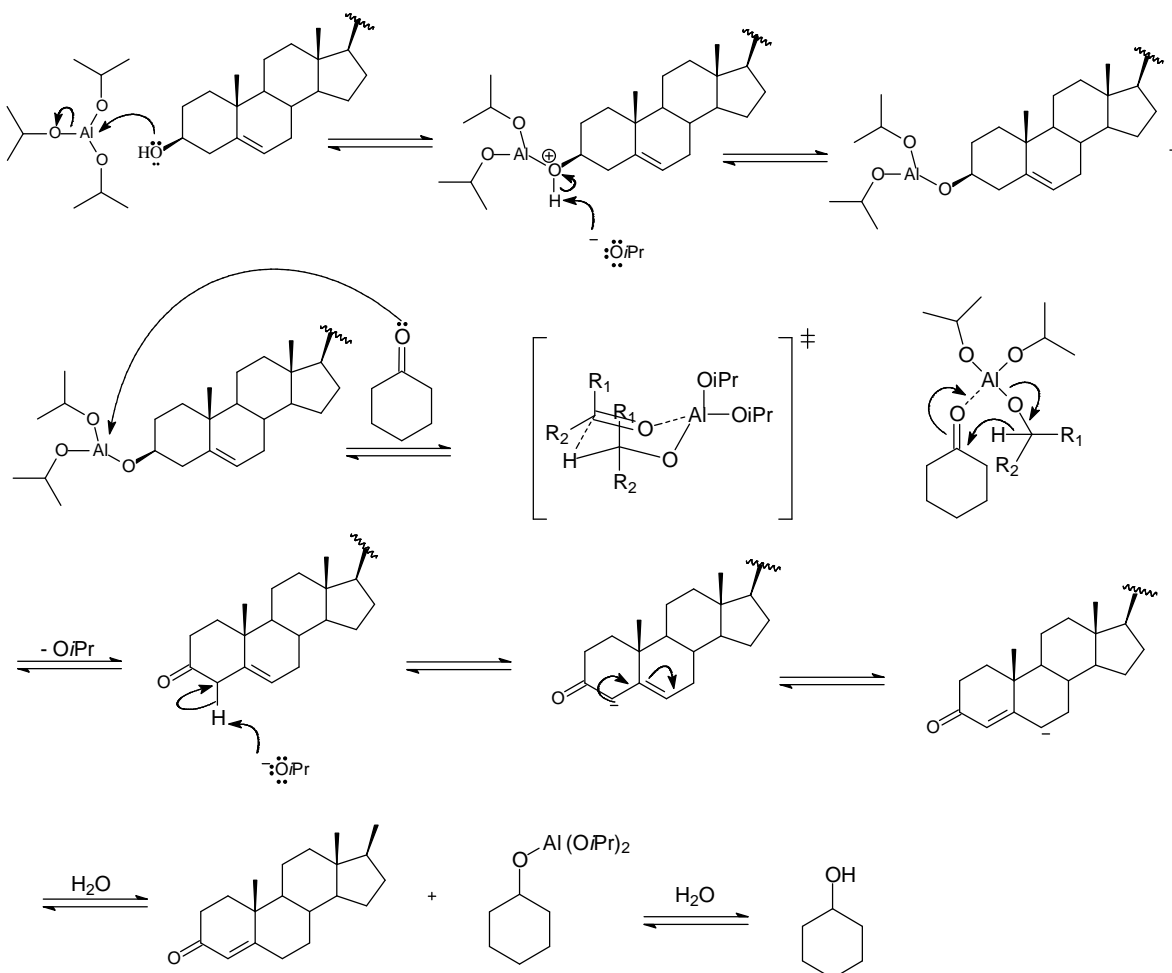


Esquema 13. Esquema da síntese de estigmast-4-en-3-ona.

Inicialmente para esta reação utilizou-se como aceptor de hidreto a acetona, porém os rendimentos obtidos foram baixos (dados não mostrados). Desta forma, empregou-se a ciclohexanona, pois, por razões estruturais, esta cetona apresenta um maior potencial de oxidação (TOJO; FERNÁNDEZ, 2006).

A realização desta reação em ciclohexanona, ao invés de acetona, apresentou como dificuldade a purificação. Foram realizados testes de metodologias de purificação, entre elas, cromatografia em coluna flash e à pressão atmosférica, porém não foi possível a retirada da ciclohexanona. Desta forma, a melhor metodologia empregada foi a destilação à vácuo da mistura reacional, seguida de recristalização em solvente previamente testado, apresentando rendimento de 38,5%

A oxidação de Oppenauer é frequentemente aplicada a síntese de esteroides, consistindo-se no aquecimento de benzeno ou tolueno com iso-propóxido de alumínio (como catalisador) e acetona, benzoquinona ou ciclohexanona (como aceptor de hidrogênio). Durante a oxidação, o álcool secundário do esteroide de partida é oxidado para um grupo cetônico (AGARWAI, 2003). Além disso, a oxidação de Δ^5 -3-hidroxiesteroides é acompanhada pela migração da ligação dupla de β , γ para a posição α , β à carbonila formada (LI; CORE, 2007), como pode ser visualizado no Esquema 14.

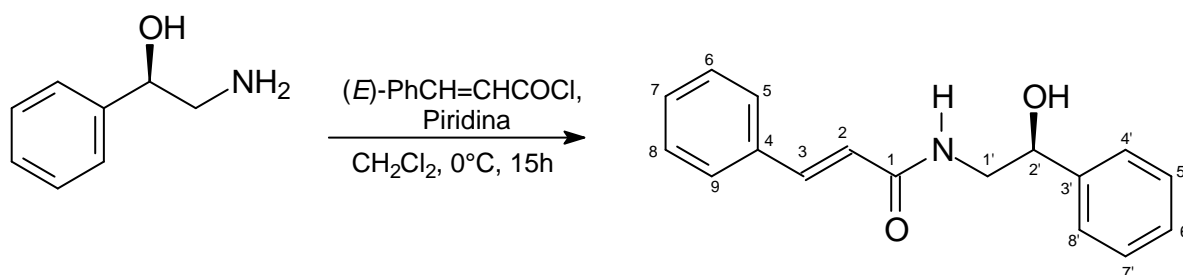


Esquema 14. Proposta de mecanismo de reação de formação de estigmast-4-en-3-ona via reação de Oppenauer. Fonte: KÜRTI, L. CZAKÓ, B. Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis. Elsevier, 2005.

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 47 e 48 - pg. 194) mostram tratar-se da substância desejada, uma vez que os dados foram comparados à substância previamente isolada (para dados de RMN completos, item 3.6.1 pg. 72 e 73). Para esta substância foi possível verificar a ausência do duplete largo em δ 5,35 ppm com constante de acoplamento 5,1 Hz atribuído ao H-6 do β -sitosterol (material de partida) e do multiplete em δ 3,52 ppm característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico atribuído ao H-3 do β -sitosterol. Além disso, verificou-se as metilas características do produto em δ 0,71 ppm, δ 0,81 ppm, δ 0,83 ppm, δ 0,84 ppm e δ 0,91 ppm e δ 1,18 ppm e a presença do simpleto largo em δ 5,72 ppm no espectro de RMN de ^1H , com integração para um hidrogênio. Através dos dados de RMN de ^{13}C observou-se a presença de carbonos característicos de esteroides. Foi possível verificar também a ausência do carbono carbinólico C-3 (aproximadamente δ 71,8 ppm no β -sitosterol) e a presença de três carbonos sp^2 , sendo observado o sinal em δ 123,7 ppm, δ 171,5 ppm e δ 199,5 ppm, sendo este deslocamento característico de carbonila de cetona α,β não saturada.

4.5.2 SÍNTESE DE (*R*)-6'-DESMETOXI AEGELINA

A síntese do análogo da aegelina foi realizada utilizando cloreto de cinamoíla, piridina e diclorometano (Esquema 15).



Esquema 15. Esquema da síntese de (*R*)-6'-desmetoxi aegelina.

Em função da variedade de atividades biológicas, existem muitos estudos visando à síntese de amidas não saturadas análogas às amidas naturais de espécies de *Piper*. A síntese de amidas envolve tipicamente reações de baixa complexidade e amplamente estudadas. A formação da amida normalmente é obtida pela reação da amina de interesse com um cloreto de acila (MARQUES, 2009; MCMURRY, 2011).

Esta reação mostrou-se eficiente e de fácil execução, apresentando rendimento de 38,3%, sendo preparada, neste caso, através do álcool aminado e cloreto de acila disponíveis em laboratório, sem a necessidade de preparação desse último.

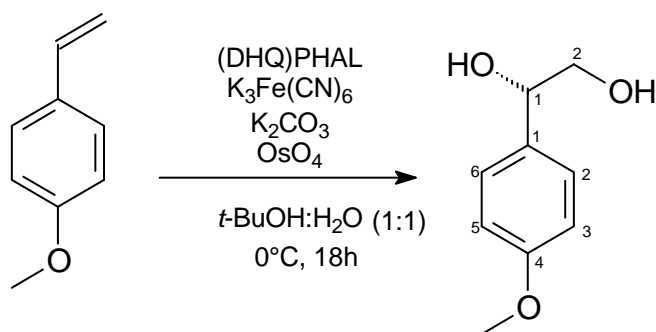
A síntese do análogo da aegelina ocorre pelo mecanismo clássico e bem conhecido de substituição nucleofílica de acila.

O produto obtido foi caracterizado por RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 49 e 50 - pg. 195) (item 3.6.2 – pg. 73 e 74 para dados de RMN). Através dos dados de RMN de ^1H foi possível verificar a presença de três duplos dupletos cada um com integração para um hidrogênio: em δ 3,41 ppm com constantes de acoplamento de 13,9 e 8,2 Hz; em δ 3,73 ppm com constantes de acoplamento de 13,9 e 3,7 Hz e em δ 4,85 ppm com constantes de acoplamento de 8,2 e 3,7 Hz. Os hidrogênios em δ 3,41 e 3,73 ppm são geminais (H-1'), visto que a constante de acoplamento é de 13,9 Hz ligado a um metino (H-2') em δ 4,85 ppm. Além disso, pode-se observar em δ 6,47 (H-2) e 7,60 ppm (H-3) dois dupletos com constante de acoplamento de 15,8 Hz com integração para um hidrogênio cada, referentes aos hidrogênios da ligação dupla com configuração *E*. Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se a presença de multipletos totalizando 10 hidrogênios, referentes aos dois anéis benzênicos monossubstituídos. Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C observou-se a presença de 17 carbonos, destes 14 são relativos a carbonos sp^2 não oxigenados, sendo dois carbonos da ligação dupla: em δ 120,2 ppm (C-2) e em δ 141,2 ppm (C-3). É possível verificar ainda a presença da carbonila em δ 167,4 ppm, confirmando a estrutura do produto, assim como observado através do infravermelho a deformação axial $\text{C}=\text{O}$, em 1660 cm^{-1} , característico de carbonila de amida.

4.5.3 SÍNTESE DE (S)-AEGELINA

4.5.3.1 ROTA 1

A primeira etapa da síntese de (S)-aegelina, produto natural isolado de *M. obtusa*, consistiu na diidroxilação assimétrica de Sharpless, partindo de *p*-metoxi-etenofenila, utilizando OsO_4 , $(\text{DHQ})_2\text{PHAL}$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e K_2CO_3 em *t*-BuOH:H₂O (1:1) (Esquema 16). Através da metodologia empregada, esta etapa demonstrou ser eficiente, obtendo alto rendimento do produto (96,8%), o qual não necessitou de purificação para dar continuidade as próximas etapas.



Esquema 16. Esquema da reação de diidroxilação assimétrica de Sharpless.

Existem muitos métodos para formar um produto diidroxilado. Dentre eles, o mais amplamente utilizado para a oxidação de alcenos é através do OsO_4 que realiza adição *sin* estereoespecífica para o lado menos impedido da ligação dupla (CAREY; SUNDBERG, 2007; SMITH; MARCH, 2007).

As oxidações com tetróxido de ósmio podem ser altamente enantiosseletivas na presença de ligantes quirais. Um dos ligantes mais eficientes desenvolvidos é o oriundo do alcaloide chinchona, derivados de quinina e quinuclidina, os quais tem alta afinidade por OsO_4 . Estas aminas se ligam ao OsO_4 *in situ*, realizando a adição assimétrica, como é o caso dos dois derivados de ftalazina $(\text{DHQD})_2\text{PHAL}$ e $(\text{DHQ})_2\text{PHAL}$ os quais induzem a alta seletividade e aceleram a reação (SMITH; MARCH, 2007) (Figura 42).

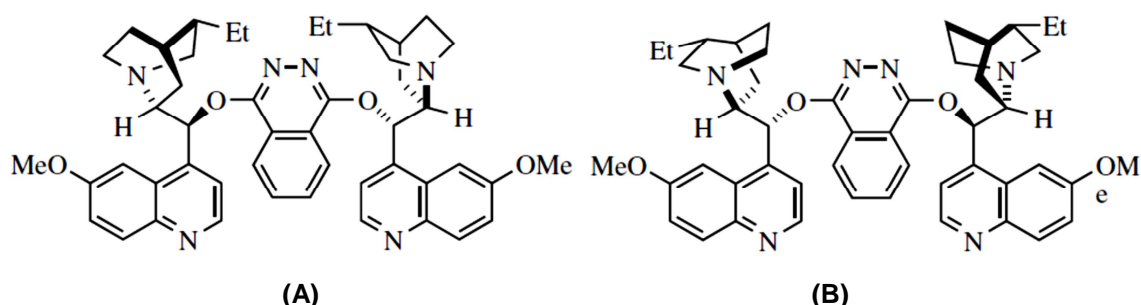


Figura 42. Estrutura química dos ligantes quirais derivados de ftalazina. (A) $(\text{DHQD})_2\text{PHAL}$ e (B) $(\text{DHQ})_2\text{PHAL}$. Fonte: SHARPLESS, K. B. *et al.* The Osmium-Catalyzed Asymmetric Dihydroxylation: A New Ligand Class and a Process Improvement. *Journal of Organic Chemistry*, v. 57, n.10, p. 2768-2771, 1992.

Em uma olefina posicionada conforme a Figura 43, a seletividade enantiofacial da reação ocorre através do ataque pela face superior (β) no caso de derivados de diidroquinidina (DHQD) (A) ou pela face de baixo (α), no caso de derivados de diidroquinina (DHQ) (B), determinando assim qual enantiômero será formado (KOLB; VANNIEUWENZHE; SHARPLESS, 1994). Através do modelo de aproximação proposto por Corey; Guzman-Perez; Noe (1995) (Figura 44), pode-se observar como ocorre a interação ligante-ósmio-olefina.

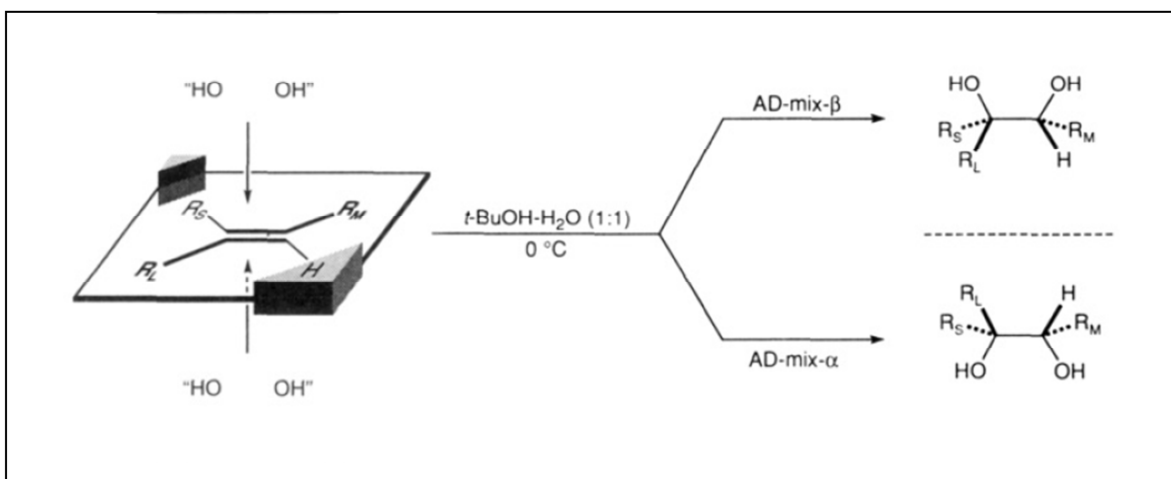


Figura 43. Possibilidades de ligação dos derivados de ftalazina determinando a enantioseletividade do produto. Fonte: SHARPLESS, K. B. *et al.* The Osmium-Catalyzed Asymmetric Dihydroxylation: A New Ligand Class and a Process Improvement. *Journal of Organic Chemistry*, v. 57, n. 10, p. 2768-2771, 1992.

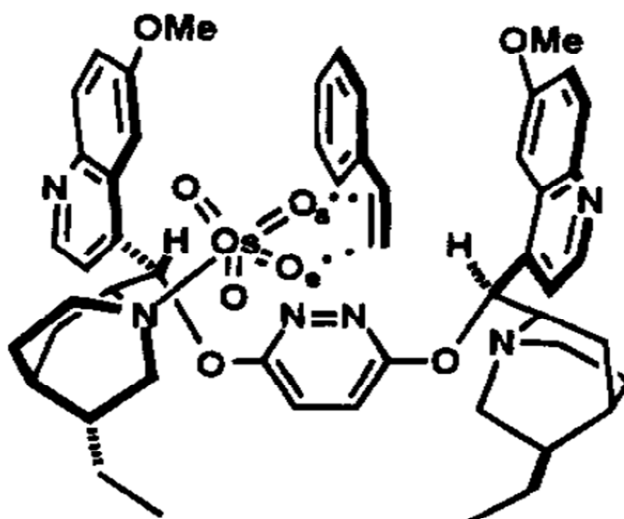
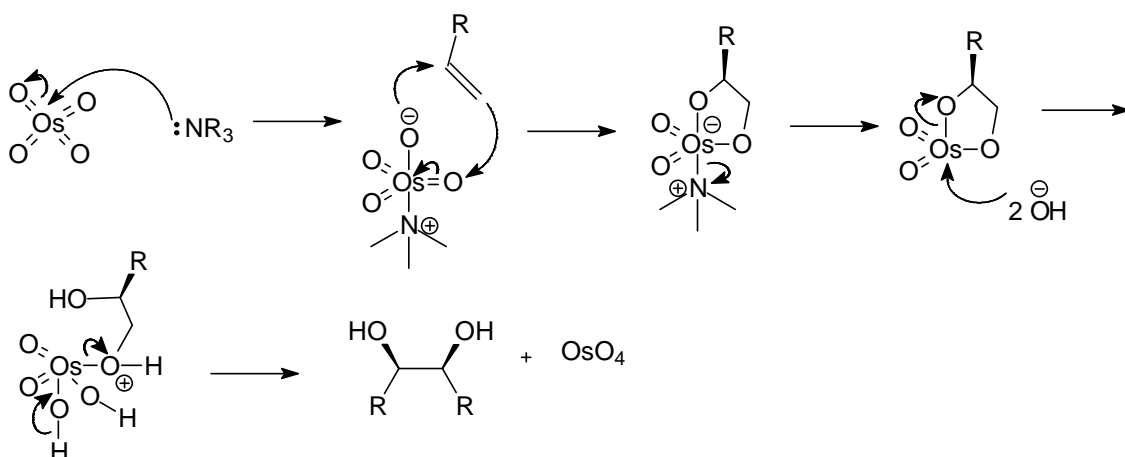


Figura 44. Modelo de aproximação da olefina com o ósmio ligado ao ligante quiral. Fonte: COREY, E. J.; GUZMAN-PEREZ, A. NOE, M. C. The application of a mechanistic model leads to the extension of the sharpless asymmetric dihydroxylation to allylic 4-methoxybenzoates and conformationally related amine and homoallylic alcohol derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, v. 117, p. 10805-10816, 1995.

O mecanismo da diidroxilação assimétrica de Sharpless pode ser visualizado no Esquema 17. Nesta, é possível observar que a adição do tetróxido de ósmio forma um éster cíclico como intermediário, obtendo como produto final um 1,2-diol com um ou dois novos centros estereogênicos (CAREY; SUNDBERG, 2007; SMITH; MARCH, 2007).

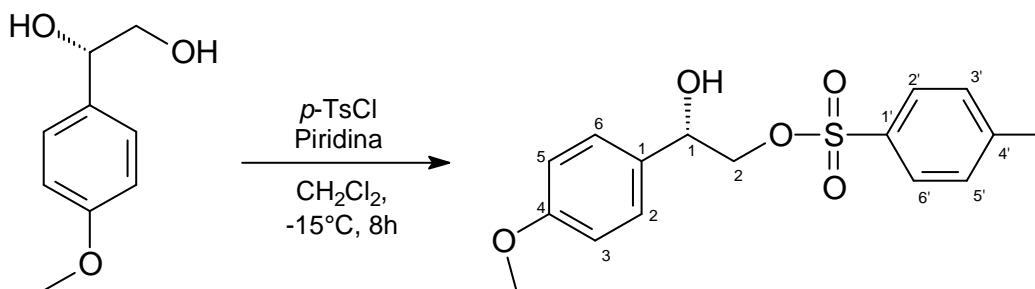


Esquema 17. Proposta de mecanismo de reação de dihidroxilação assimétrica de Sharpless. Fonte: KOLB, H. C.; VANNIEUWENHZE, M. S.; SHARPLESS, K. B. *Catalytic Asymmetric Dihydroxylation*. Chemical Reviews, v. 94, p. 2483-2547, 1994; ROWLANDS, G. *Reduction and Oxidation*, 2002. Disponível em: < <http://www.sussex.ac.uk/Users/kafj6> >.

O produto obtido foi caracterizado por RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 51 e 52 - pg. 196) (item 3.6.3.1.1, pg. 74 e 75 para dados de RMN). Através dos dados de RMN de ^1H foi possível verificar a presença de dois dupletos cada um com integração para dois hidrogênios: em δ 6,87 ppm e δ 7,26 ppm com constantes de acoplamento *orto* de 8,7 Hz referentes ao anel *para* substituído. A formação do diol pode ser confirmada através presença de duplos dupletos em δ 3,59 ppm e δ 3,66 ppm (H-2a; H-2b) relativos aos hidrogênios geminais, em δ 4,70 ppm (H-1) e através da ausência dos sinais dos hidrogênios da ligação dupla, confirmando a ausência do material de partida. Os deslocamentos de RMN de ^{13}C em δ 67,3 ppm e δ 74,1 ppm, são referentes aos carbonos carbinólicos, assim como a presença de seis carbonos sp^2 , sendo um oxigenado em δ 159,2 ppm no qual se encontra ligado a metoxila.

Para a discussão de RMN das próximas etapas será levado em consideração apenas os deslocamentos químicos em relação às alterações que ocorreram na estrutura do composto em função da reação realizada.

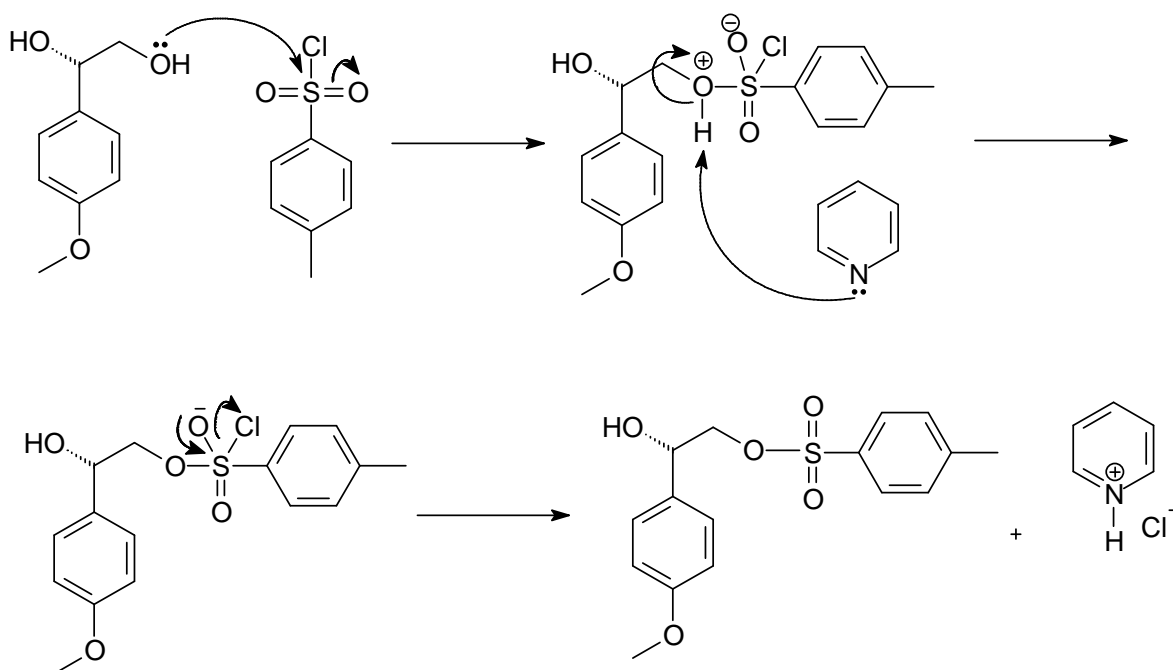
A segunda etapa da síntese de (S)-aegelina consistiu na tosilatação do (S)-1-(4-metoxifenil)-1,2-etanodiol, onde se utilizou cloreto de *p*-toluenossulfonila, piridina como base e diclorometano (Esquema 18).



Esquema 18. Esquema da reação de tosilatação.

A preparação de um éster tosila a partir de álcool é um efetivo meio de obter um bom grupo abandonador, frequentemente utilizado para facilitar uma subsequente reação de substituição nucleofílica. A reação é muito geral, e o método usual para introduzir grupos tosila é a reação deste com o álcool em piridina a temperatura de 0 a -25 °C (TIPSON, 1944; KABALKA *et al.*, 1986; CAREY; SUNDBERG, 2007).

No caso do produto dihidroxilado é vantajoso optar pela adição do grupo tosila ao invés de halogênios, uma vez que o grupo tosila sob condições específicas, apresenta seletividade a hidroxila primária em detrimento da secundária (PIGMAN, 1957; KAWANO, 2010). O mecanismo desta reação pode ser visualizado na Esquema 19.



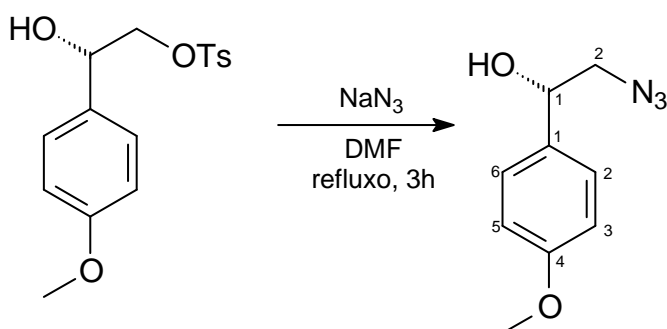
Esquema 19. Proposta de mecanismo de reação de tosilação.

Embora a metodologia desta reação seja usualmente conhecida e o rendimento descrito na literatura citada tenha sido de 80%, seguindo as mesmas condições reacionais obteve-se um baixo rendimento, sendo de apenas 9,6% do produto, o que representa um problema limitante para o rendimento global da reação. Além disso, foi possível recuperar 1,6 g de material de partida, o qual foi novamente submetido a reação para gerar o produto tosilaado, porém não foi possível obter um rendimento superior ao anteriormente obtido. O produto ditosilaado também foi obtido como subproduto desta reação, porém com baixos rendimentos. Acredita-se que este baixo rendimento possa ser atribuído a hidrólise do cloreto de tosila no seu ácido correspondente.

Os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 53 e 54 - pg. 197) (item 3.6.3.1.2, pg. 75 e 76 para dados de RMN) revelam que após purificação foi possível obter o produto monotosilaado na hidroxila primária, visto que no RMN de ^1H além dos

sinais característicos descritos anteriormente, é possível verificar a presença de apenas um sinal de metila aromática em δ 2,44 ppm com integração para três hidrogênios e dois dupletos na região de aromático, em δ 7,22 ppm e δ 7,77 ppm com constante de acoplamento de 8,6 Hz e integração para dois hidrogênios cada, referente ao anel *p*-substituído do toсила. Além disso, através dos dados de RMN de ^{13}C é possível verificar alteração no deslocamento químico do C-2, o qual no material de partida apresenta deslocamento de δ 67,3 ppm e no produto monotosilado o deslocamento do carbono é δ 71,4 ppm.

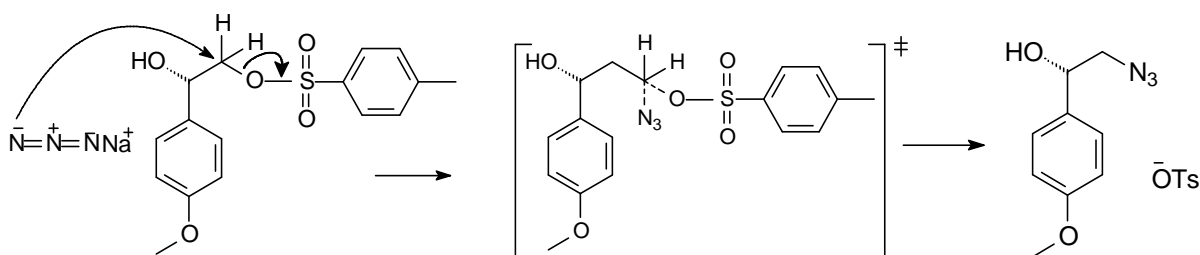
A etapa seguinte da síntese de (*S*)-aegelina consistiu na substituição nucleofílica do tosilato pela azida (Esquema 20).



Esquema 20. Esquema da síntese do produto azida.

O íon azida N_3^- , sendo a azida de sódio mais comumente empregada, é utilizado na reação de substituição nucleofílica, com um bom grupo de saída, como haletos ou tosilatos, para então formar uma azida de alquila, RN_3 . Para isto, o método mais confiável envolve utilizar o substrato com a azida de sódio em presença de DMF como solvente (SCRIVEN; TURNBULL, 1988; BRASE *et al.*, 2005; CAREY; SUNDBERG, 2007; MCMURRY, 2011).

O mecanismo desta reação pode ser visualizado na Esquema 21.



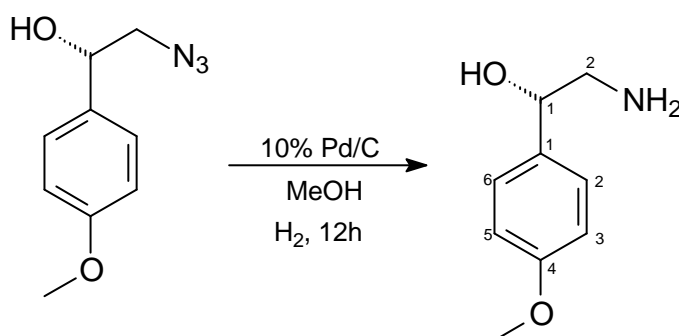
Esquema 21. Proposta de mecanismo de substituição nucleofílica através de azida.

Através da metodologia empregada, esta etapa demonstrou ser eficiente e de fácil execução. Obteve-se como produto um óleo amarelado impuro, porém, com pureza

suficiente para seguir para a próxima etapa da reação, como pode ser verificado nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 55 e 56 - pg. 198) (item 3.6.3.1.3, pg. 76 e 77, para dados de RMN). Os dados de RMN de ^1H , permitiram observar que a reação foi completa devido à ausência do simpleto da metila aromática em δ 2,44 ppm, assim como dos sinais aromáticos referentes ao grupo tosilato. Além disso, através dos dados de RMN de ^{13}C , foi possível observar o produto formado, devido a alteração no deslocamento químico de C-2 de δ 71,4 ppm do material de partida (tosilato) para δ 58,1 ppm no produto azida.

As azidas são derivados orgânicos muito úteis para compostos contendo nitrogênio, pois o grupo azida é estável em alguns reagentes e pode ser facilmente reduzido a aminas primárias (SMITH; NOTHEISZ, 1999).

A etapa seguinte consistiu nesta redução (Esquema 22). A redução de azidas na sua amina correspondente tem sido realizada com hidrogênio na presença de um catalisador, como a clássica hidrogenação catalítica de Pd/C (BRASE *et al.*, 2005), e este método têm revelado bons rendimentos (SCRIVEN; TURNBULL, 1988).



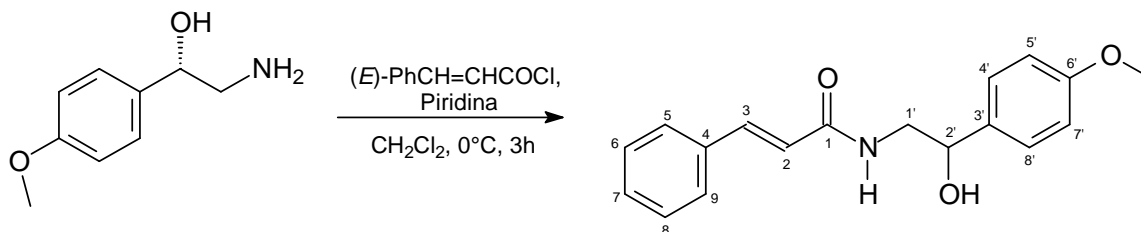
Esquema 22. Esquema da redução da azida para amina primária.

A hidrogenação-hidrogenolisação precisa que ambas as ligações sejam hidrogenadas e que a ligação simples N-N seja hidrogenolizada. Para isto o catalisador Pd/C é frequentemente utilizado com metanol em atmosfera de H_2 (SMITH; NOTHEISZ, 1999). O mecanismo de hidrogenação catalítica no caso de azidas não está bem estabelecido, mas sabe-se que trizenos $\text{RN}=\text{NNH}_2$, tem sido sugerido como intermediário (TROST, 1991).

Através da metodologia empregada, esta etapa também demonstrou ser eficiente e de fácil execução, apresentando um rendimento de 94,9%. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 57 e 58 - pg. 199) (item 3.6.3.1.4, pg. 77, para dados de RMN), permitiram observar a alteração do deslocamento de H-2a de δ 3,40 ppm para δ 2,80 ppm e H-2b de δ 3,47 para δ 2,98 ppm. O H-1 também alterou seu deslocamento químico de δ 4,82 ppm para δ 4,58 ppm. Os dados de RMN de ^{13}C , reafirmam a

formação do álcool aminado através da alteração de C-2 de δ 58,1 ppm no material de partida (azida), para δ 48,6 ppm na presença de amina primária.

A etapa final para a síntese de (S)-aegelina foi realizada utilizando cloreto de cinamoíla, piridina e diclorometano (Esquema 23), apresentando rendimento de 13,1%.



Esquema 23. Esquema da etapa final da síntese de (S)-aegelina.

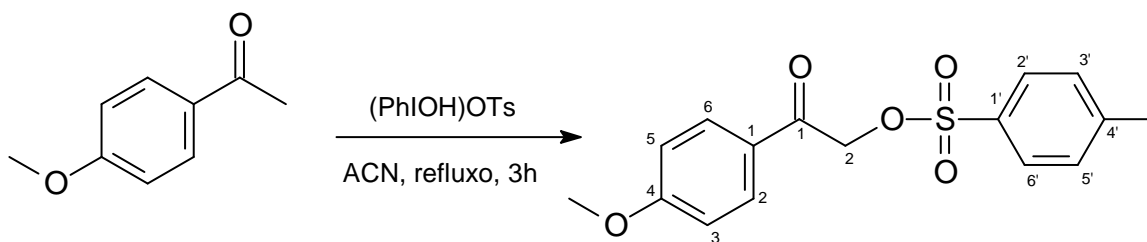
Esta última etapa, consiste na mesma reação e mecanismo de substituição nucleofílica de acila propostos para a síntese do análogo da aegelina, alterando apenas o material de partida.

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C são iguais aos descritos para a aegelina isolada a partir do extrato diclorometânico de *Manekia obtusa* citada anteriormente. A formação do produto pode ser confirmada pela análise de por RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 59 e 60 - pg. 200) (item 3.6.3.1.5, pg. 77 e 78, para dados de RMN), o qual é possível verificar, a presença de dois dupletos em δ 6,53 (H-2) e 7,59 ppm (H-3) com constante de acoplamento de 15,7 Hz com integração para um hidrogênio cada, que são referentes aos hidrogênios sobre a ligação dupla com configuração *E*. Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se também a presença dois multipletos: em δ 7,37 ppm com integração para três hidrogênios e em δ 7,53 ppm com integração para dois hidrogênios, correspondendo ao anel aromático monosubstituído. A análise de RMN de ^{13}C , novamente confirma a formação da aegelina, pelo surgimento de novos nove carbonos, em detrimento do material de partida, sendo um deles em δ 167,6 ppm referente a carbonila de amida formada.

Com os dados apresentados, é possível observar que a rota 1, apresentou um rendimento global de apenas 1,27%, causada principalmente pelo baixo rendimento da reação de tosilção. Desta forma, devido à necessidade de obter maior quantidade de (S)-aegelina para a realização de ensaios inseticidas, optou-se por realizar uma nova rota de síntese para o constituinte desejado, sendo esta nova metodologia descrita por Lee *et al.* (2007).

4.5.3.2 ROTA 2

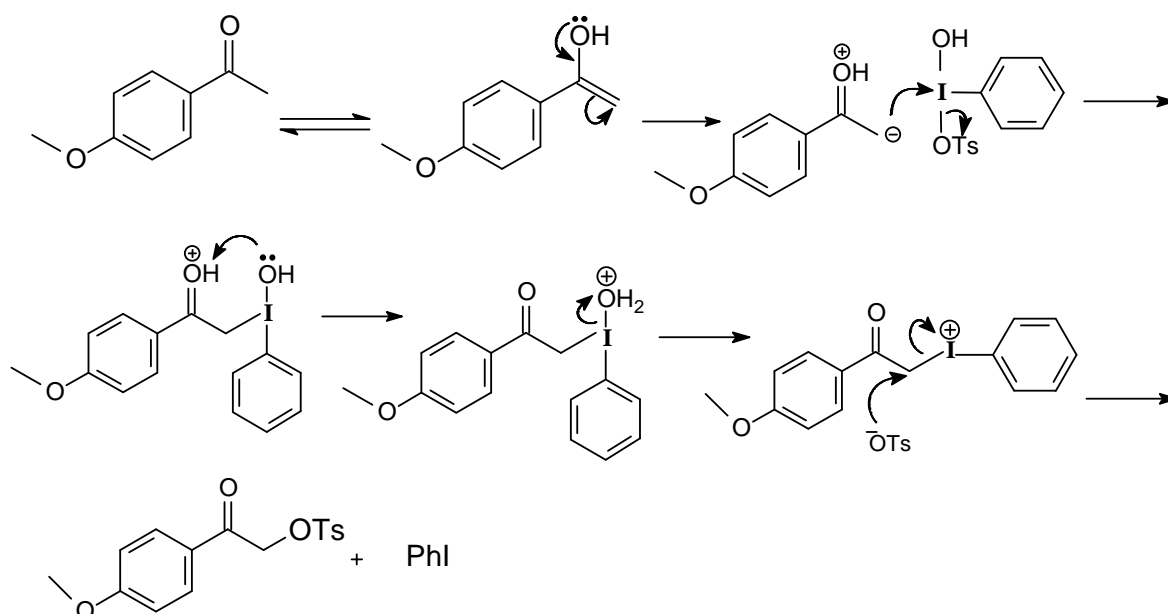
A primeira etapa da segunda rota da aegeline envolve a α -oxitosilação de cetonas, utilizando 4-metoxiacetofenona e [hidroxi(tosiloxi)iodo]benzeno, em acetonitrila sob refluxo (Esquema 24). Através da metodologia empregada, esta etapa demonstrou ser eficiente e de fácil execução, obtendo um produto de fácil purificação e um rendimento considerado satisfatório de 68,3%.



Esquema 24. Esquema da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.

O [hidroxi(tosiloxi)iodo]benzeno (reagente de Koser) é um reagente útil para a α -oxitosilação de cetonas, visto que é capaz de converter em apenas uma etapa, cetonas enolizáveis ao seu correspondente α -tosiloxi cetona (KOSER *et al.*, 1982; TUNCAY *et al.*, 1992; KOSER, 2001; NABANA, TOGO, 2002). A oxitosilação direta de cetonas no carbono α está entre as aplicações mais populares do reagente de Koser. Isto se deve a facilidade e generalidade do produto como um intermediário sintético útil (KOSER, 2001), os quais podem reagir com diferentes nucleófilos (VARVOGLIS, 1997).

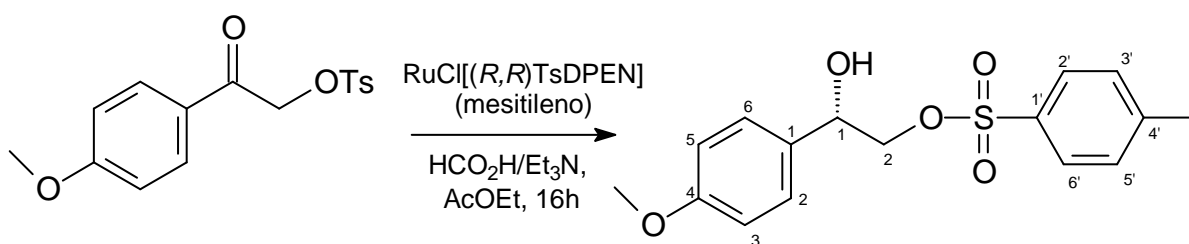
A α -oxitosilação de cetonas é iniciada pela adição eletrofílica de PhIOH^+ ao correspondente tautômero enol. A substituição nucleofílica de iodobenzeno do carbono α pelo íon tosilato dará origem ao produto final (KOSER *et al.*, 1982), como pode ser observado no mecanismo abaixo (Esquema 25).



Esquema 25. Proposta de mecanismo de α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona. Fonte: KOSER, G. F. *et al.* One-Step α -Tosyloxylation of Ketones with [Hydroxy(tosyloxy) iodo]benzene. *Journal of Organic Chemistry*, v. 47, p. 2487-2489 2487, 1982.

Através da análise dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 61 e 62, pg. 201) (item 3.6.3.2.1, pg. 79, para dados de RMN), foi possível confirmar a formação do produto desejado, onde se verifica a presença do substituinte tosila no espectro de RMN de ^1H através do sinal da metila aromática em δ 2,45 ppm com integração para três hidrogênios, além da presença de novos dois dupletos (se comparados ao material de partida), em δ 7,34 e em δ 7,86 ppm com constante de acoplamento *orto* de 8,5 Hz e com integração de dois hidrogênios cada. Os dados de RMN de ^{13}C , também confirmam a formação do produto através da presença de novos seis carbonos na região de aromáticos além da presença da metila em δ 21,7 ppm.

A segunda etapa da síntese consiste na reação de Noyori, que realiza hidrogenação assimétrica por transferência de hidrogênio a cetonas pró-quirais, utilizando, neste caso, a α -tosiloxi-*p*-metoxiacetofenona na presença do catalisador $\text{RuCl}[(R,R)\text{TsDPEN}]$ (mesitileno), da mistura azeotrópica de ácido fórmico/trietilamina (5:2) e acetato de etila (Esquema 26). As condições reacionais foram previamente testadas, onde as variáveis analisadas foram alteração de tempo de reação (12 h, 16 h e 70 h), temperatura (temperatura ambiente e 60 °C) e relação estequiométrica reagente/catalisador (200:1 e 1000:1), sendo que a condição que apresentou menos subprodutos foi a relação de 200:1, a temperatura ambiente por 16h, apresentando rendimento de 98,7%.



Esquema 26. Esquema da reação de Noyori.

A hidrogenação por transferência é a redução de ligações múltiplas, com o auxílio de um doador de hidrogênio e de um catalisador metálico. As reações por transferência de hidrogênio utilizam outras fontes de hidrogênio, que não o molecular, como por exemplo, o cicloexeno, cicloexadieno, álcoois, ácido fórmico, hidrazina, dentre outros (MURTINHO, 2006).

A transferência assimétrica de hidrogênio tem sido amplamente aplicada na hidrogenação enantiosseletiva de carbonilas. Esta transferência assimétrica oferece uma simplicidade operacional, uma vez que a reação não envolve hidrogênio molecular, além de uma alta seletividade. Geralmente os catalisadores consistem em ligantes bidentados ligados a rutênio ou ródio. Tem sido demonstrado na literatura que (1*R*,2*R*) ou (1*S*,2*S*)-*N*-(*p*-tolueno-sulfonil)-1,2-difeniletilenoamina (TsDPEN) é um excelente ligante para a transferência catalítica de hidrogenação de aril cetonas (FUJII *et al.*, 1996, NOYORI; YAMAKAWA; HASHIGUCHI, 2001; MURTINHO, 2006).

Uma vez que Noyori; Yamakawa; Hashiguchi (2001) descobriram que os complexos de rutênio modificados com arenos e 1,2-diaminas *N*-tosilatos eram eficientes na redução assimétrica de cetonas, este sistema permitiu obter álcoois com conversões praticamente completas e excesso enantiomérico até 99% (MURTINHO, 2006). Esta reação pode ser rotineiramente realizada utilizando uma mistura azeotrópica de ácido fórmico/trietilamina como doadores de hidrogênio (FUJII *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 2007), o qual é um aduto de H₂ e CO₂, que permite efetuar a redução de forma irreversível, devido à liberação do CO₂ (FUJII *et al.*, 1996; MURTINHO, 2006).

O mecanismo da transferência assimétrica de hidrogênio de uma ligação dupla C=X (X= N, O), usando RuCl[(*R,R*)TsDPEN](mesitileno) pode ser dividido em três partes fundamentais: (1) geração da espécie catalítica ativa, a partir do “pré-catalisador” cloreto; (2) redução da ligação dupla com concomitante geração da assimetria e (3) regeneração do catalisador (Figura 45) (VÁCLAVÍK *et al.*, 2013).

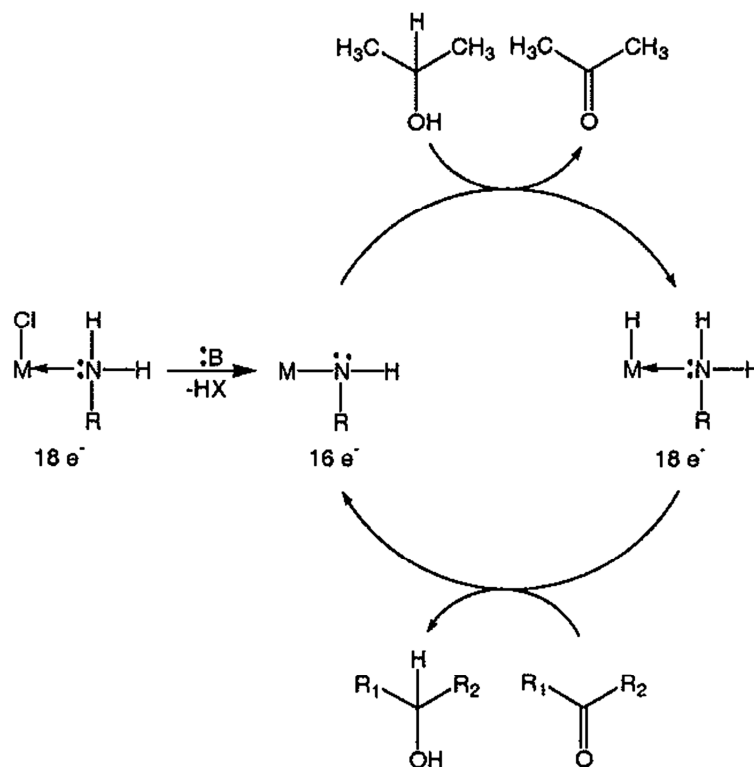


Figura 45. Etapas do mecanismo da reação de Noyori. Fonte: SPAHN, C. W. Transfer Hydrogenation: Emergence of the Metal-Ligand Bifunctional Mechanism, 2002. Disponível em: <http://www.chemistry.illinois.edu/research/inorganic/seminar_abstracts/2002-2003/Spahn.Abstract.LitSeminar.pdf>.

A redução da ligação dupla gera um álcool com centro estereogênico, e esta enantiosseletividade depende da forma como a cetona se aproxima do complexo, pela posição dos substituintes da cetona em relação ao ligante. A reação ocorre via complexo de rutênio, onde o substrato se aproxima do complexo de tal forma que seja capaz de efetuar, simultaneamente, uma ligação de hidrogênio entre o próton da amina e o par de elétrons livre da carbonila, e uma ligação entre o carbono carbonílico e o hidreto do rutênio. O sistema é efetivo e seletivo devido à natureza do seu estado de transição de seis membros, sendo este $M^+-H^--C^+-O^--H^+-N^-$ (Figura 46) (NOYORI; YAMAKAWA; HASHIGUCHI, 2001; MURTINHO, 2006, MORRIS, 2009). A informação quiral presente no catalisador permitirá diferenciar entre a face *Si* e a face *Re* do substrato (MURTINHO, 2006).

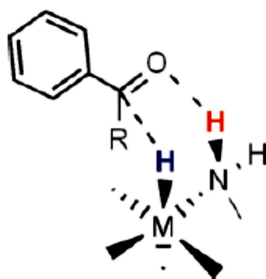


Figura 46. Ligação do complexo a cetona pró-quiral. Fonte: MORRIS, R. H. *Asymmetric hydrogenation, transfer hydrogenation and hydrosilylation. of ketones catalyzed by iron complexes*. Chemical Society Reviews, v. 38, p. 2282–2291, 2009.

Noyori; Yamakawa; Hashiguchi (2001) propõem que a quiralidade do estado de transição, seja não só devido à geometria do quelato formado pelo metal e pelo auxiliar quiral, mas também à interação CH/ π entre o ligante η^6 -areno do catalisador de rutênio e o grupo arila do substrato, que estabiliza o estado de transição e determina a enantiosseletividade do processo (MURTINHO, 2006).

Os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexo 1 - Espectro 63 e 64 - pg. 202) (item 3.6.3.2.2, pg. 79 e 80, para dados de RMN), são os mesmos obtidos para a tosilção da rota 1, em que pode ser observado a formação do estereocentro devido ao surgimento de três duplos dupletos com integração para um hidrogênio cada: em δ 4,03 com constante de acoplamento de 10,3 e 8,5 Hz, em δ 4,10 com constante de 10,3 e 3,4 Hz, sendo estes dois geminais e em δ 4,92 ppm, com constante de 8,5 e 3,4 Hz, o qual se encontra ligado ao carbono carbinólico. Pode-se observar também a ausência do sinal em δ 5,20 ppm com integração para dois hidrogênios, referentes aos hidrogênios α à carbonila. Além disso, os deslocamentos de RMN de ^{13}C , comprovaram a ausência da carbonila da cetona em δ 188,7 ppm e alteração do deslocamento de C-1 para 74,3 ppm.

As etapas seguintes consistiram nas mesmas reações já descritas para a rota 1 sendo (1) substituição nucleofílica do tosilato pela azida, obtendo-se 0,90 g de um óleo amarelo impuro; (2) redução do produto com azida em amina primária cujo rendimento foi de 99,3% e (3) substituição nucleofílica de acila com cloreto de cinamoíla com rendimento de 12,4%. Ver página 81 - 82 para esquemas e descrição dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C .

Com a realização da segunda rota de síntese para a obtenção de (S)-aegelina, foi possível obter material necessário para a realização dos ensaios inseticidas. É possível observar que a rota 2 demonstrou ser mais eficiente, apresentando um rendimento global de 8,37% em detrimento do rendimento global da rota 1 de 1,27%. Este aumento no rendimento pode ser justificado, em parte, pela ausência da etapa de tosilção do álcool secundário, o qual na rota 1 apresentou um rendimento de apenas 9,6%. Desta forma,

esta segunda rota demonstrou ser uma rota alternativa e viável para a síntese de (S)-aegelina.

4.6 ATIVIDADE INSETICIDA

Os constituintes sintetizados: (S)-aegelina (**MO 1**), (R)-6'-desmetoxi aegelina (**NMO 1**) e estigmast-4-en-3-ona (**MO 4**), bem como os constituintes obtidos comercialmente: *E*-cinamamida (**MO 2**), β -sitosterol (**MO 3A**) e estigmasterol (**MO 3B**), foram avaliados quanto a sua influência no ciclo de vida de *S. exigua*, isoladamente ou em misturas. As misturas foram divididas de acordo com a classe, sendo mistura de amidas (mistura 1: **MO 1** + **MO 2**; mistura 2: **NMO 1** + **MO 2**), mistura de esteroides (**MO 3A** + **MO 3B** + **MO 4**) e mistura total (mistura 1: **MO 1-MO 4**; mistura 2: **NMO 1** + **MO 2-MO 4**).

Para estes constituintes foram avaliados quatro parâmetros frente à *S. exigua*: taxa de sobrevivência; massa da pupa; tempo de desenvolvimento (considerando o número de dias entre o terceiro estágio e pupação) e tempo de desenvolvimento total. Os constituintes químicos testados apresentaram diferentes respostas, sendo que as amostras que apresentaram diferença significativa do controle serão discutidas nesta seção.

Com os resultados obtidos há evidências de que os constituintes que ocorrem naturalmente em *M. obtusa* atuam sinergicamente na taxa de sobrevivência de *S. exigua*. Dentre as dietas individuais, apenas a estigmast-4-en-3-ona (**MO 4**) teve um efeito dose dependente significativo na taxa de sobrevivência ($p = 0,024$), com uma dose letal para reduzir 50% a sobrevivência (DL_{50}) de 0,53% do peso seco. Entretanto, este efeito não foi observado na mistura dos esteroides, indicando um potencial antagonismo entre os mesmos. Ambas as misturas de amidas (mistura 1 = **MO 1** + **MO 2**; mistura 2 = **NMO 1** + **MO 2**) afetaram negativamente a taxa de sobrevivência, sendo que com **MO 1** há uma tendência na redução ($p = 0,085$) para uma resposta dose dependente ($DL_{50} = 1,94\%$ do peso seco), e com **NMO1** há redução ($p = 0,013$) com DL_{50} de 1,70% do peso seco, porém este efeito não é observado nos constituintes individuais, indicando um potencial sinergismo. Além disso, a mistura de todos os constituintes de ocorrência natural (**MO 1** – **MO 4**) revelou uma diminuição na taxa de sobrevivência com DL_{50} de 1,39% do peso seco ($p=0,045$), o qual foi menor comparado a mistura das amidas **MO 1** e **MO 2** ($DL_{50} = 1,94\%$), o que nos revela indícios de atividades sinérgicas na mistura completa (Figura 47). Testando individualmente as amidas **MO 1** e **NMO 1**, observou-se que o análogo (**NMO 1**) tem efeitos significativamente diferentes na bioatividade apresentando sobrevivência larval maior que o produto natural **MO 1** ($p=0,027$) (Figura 48).

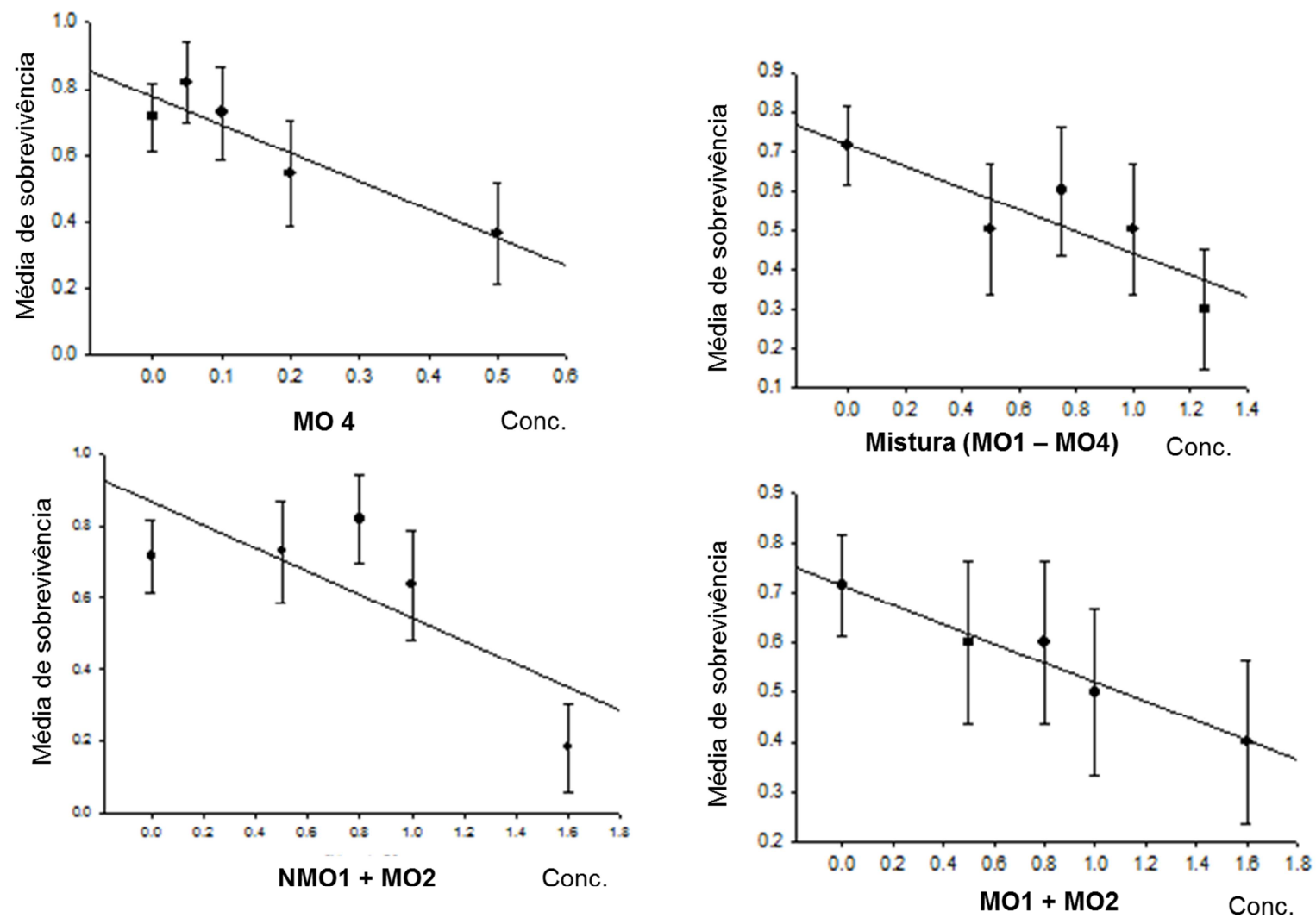


Figura 47. Efeito dos constituintes na média de sobrevivência de *S. exigua*.

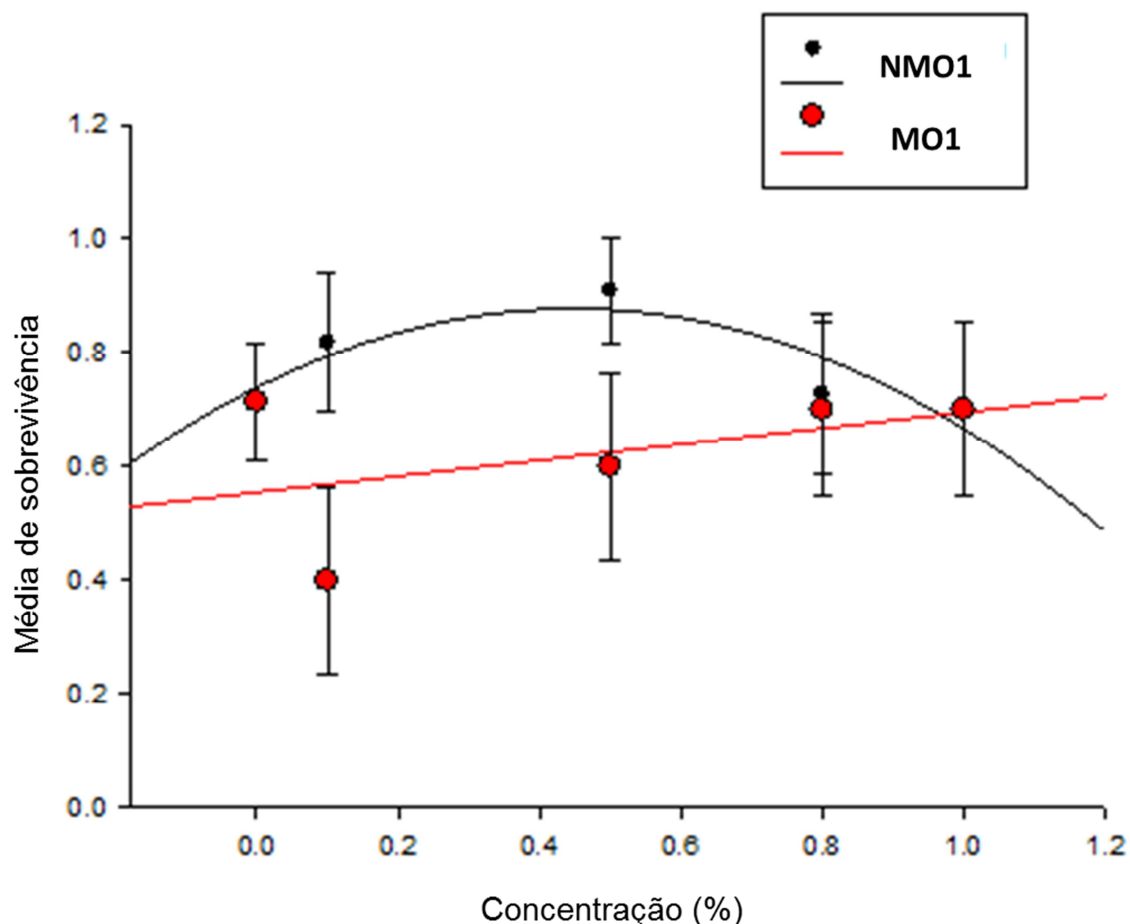


Figura 48. Efeito comparativo de NMO1 (preto) e MO1 (vermelho) na média de sobrevivência de *S. exigua*.

Com relação à massa da pupa, a cinamamida (**MO 2**) causou forte redução da massa ($p = 0,001$), o qual também foi observado em ambas as misturas de amidas (**MO 1 + MO 2**) ($p = 0,043$) e (**NMO 1 + MO 2**) ($p = 0,044$). Todavia, quando se analisa a misturas completas (**MO 1-MO 4** e **NMO 1 + MO 2-MO 4**), não se verifica nenhum efeito significativo (Figura 49). Na mistura de amidas **MO 1** e **MO 2** a inclinação da regressão foi menor ($-0,013$) que na dieta da cinamamida (**MO 2**) individualmente ($-0,068$), indicando um efeito de diluição causado pela adição da aegolina (**MO 1**).

O tempo de desenvolvimento também é afetado pela amida cinamamida (**MO 2**) ($p = 0,003$), bem como a mistura de amidas com o análogo (**NMO 1 + MO 2**) ($p = 0,001$), exercendo um aumento no tempo de desenvolvimento larval (considerando o número de dias entre o terceiro instar e pupação). Embora a cinamamida (**MO 2**) individualmente tenha aumentado o tempo de desenvolvimento larval, quando testada na mistura total (**MO 1-MO 4**), o tempo de desenvolvimento diminuiu ($p = 0,047$), indicando que sua atividade é inibida pela presença dos outros compostos naturais (Figura 50).

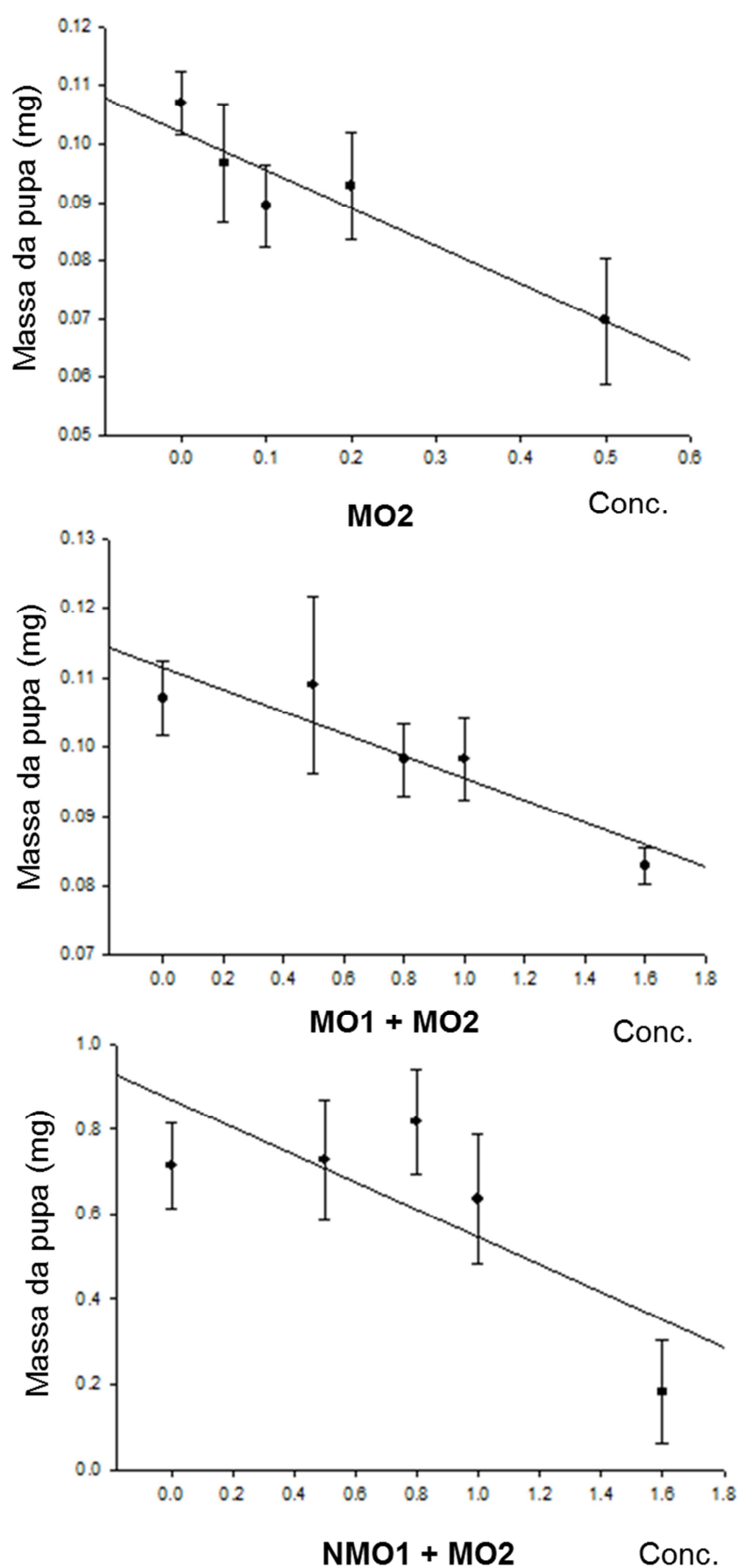


Figura 49. Efeito dos constituintes na massa da pupa de *S. exigua*.

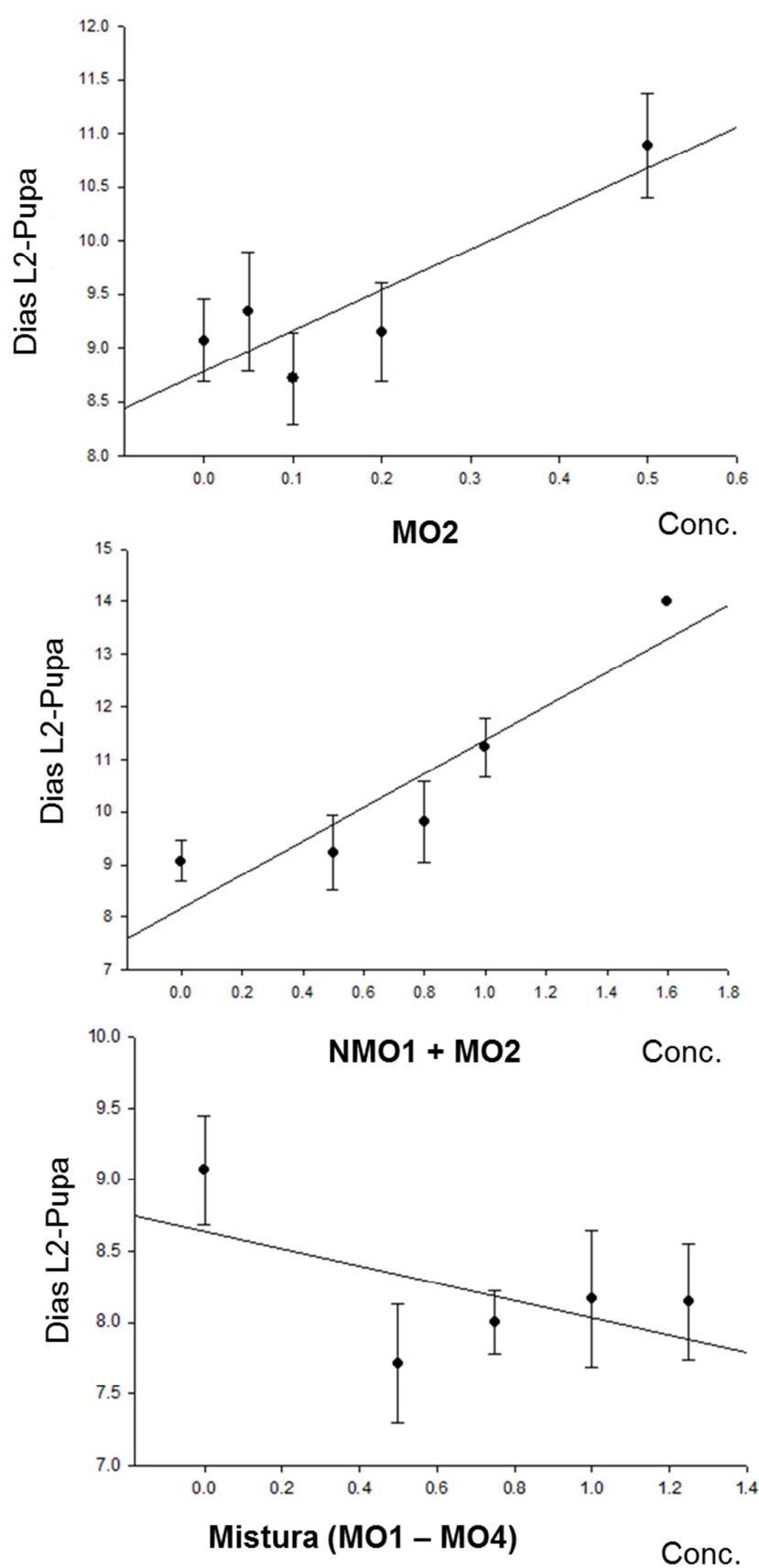


Figura 50. Efeito dos constituintes no tempo de desenvolvimento de *S. exigua*.

Com relação ao tempo de desenvolvimento total, a mistura de amidas **NMO 1** e **MO 2** aumentou o tempo de desenvolvimento em comparação a mistura **MO 1** e **MO 2**, como pode ser observado ($p \leq 0,001$) na Figura 51.

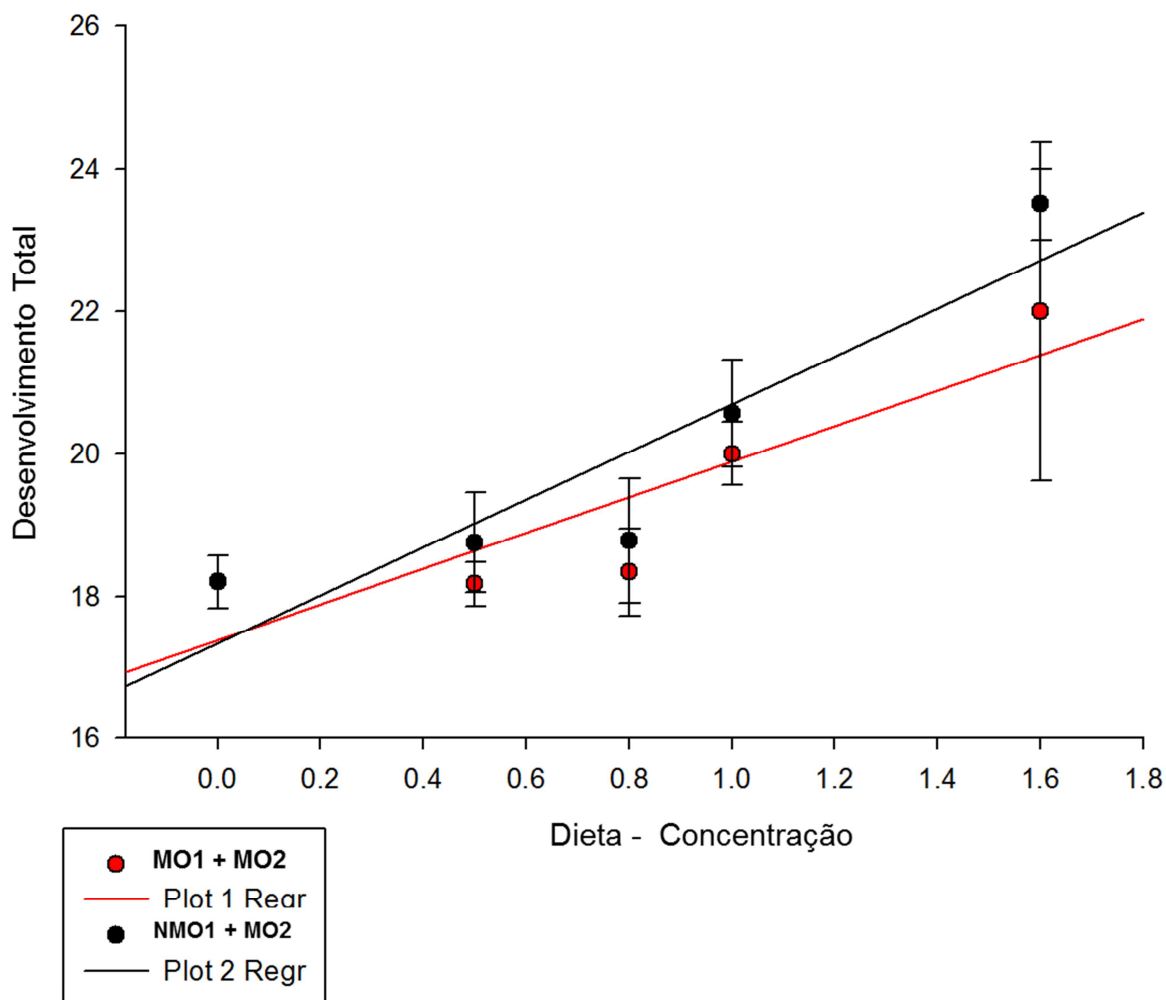


Figura 51. Efeito dos constituintes no tempo de desenvolvimento total de *S. exigua*.

Resultado semelhante ao obtido neste trabalho foi observado no estudo de Castral (2008), onde a amida sintética *N,N*-(piperidina)-3-(3',4'-metilenodioxifenil)-2-(*E*)-propenamida também causou prolongamento da fase larval e pupal e a diminuição da massa da pupa. Como consequência destes resultados, Castral (2008) afirma que o prolongamento da fase larval, associados à diminuição da massa da pupa indica a inibição tanto do crescimento, como do consumo de comida pelo inseto na respectiva fase (TANZUBIL; MCCAFFERY, 1990). Esta redução no crescimento pode indicar dois modos de ação da amida: deterrence alimentar causando uma diminuição no consumo de comida, e/ou efeito de toxicidade crônica após a ingestão (WHEELER *et al.*, 2001).

Segundo Mordue e Nisbet (2000), a deterrência é um distúrbio associado a mecanismos sensoriais que causa redução do consumo do alimento. Para estes autores, o comportamento alimentar dos insetos depende da integração do sistema nervoso central com os quimiorreceptores. Ao reduzir o consumo de alimento, a deterrência provoca deficiência nutricional que, por sua vez, ocasiona atraso no desenvolvimento ou deformações dos insetos. Estas deformações ou deficiência nutricional diminuem a capacidade de movimentação do inseto na procura por alimentos ou de locais para abrigo e reprodução (COSTA *et al.*, 2004).

Como consequência destes resultados, o inseto pode se tornar mais vulnerável a ação de patógenos e variações do meio ambiente (BATISTA-PEREIRA *et al.*, 2002). Adultos que emergem de pupas com peso abaixo da média se tornam mais debilitados. O prolongamento do ciclo de inseto é uma estratégia do manejo integrado de pragas, diminuindo o número de insetos no campo (MIKOLAJCZAK; ZILKOWSKI; BARTELT, 1989).

No estudo de Dyer *et al.* (2003), as amidas isoladas de *Piper cenocladum* (piplartina, 4'-desmetilpiplartina e cenocladamida), também exerceram aumento no tempo de desenvolvimento larval e diminuíram a sobrevivência. De forma semelhante, Richards *et al.* (2010) obteve redução da massa larval *Eois nympha*, a qual pode ser observada através da mistura de imidas isoladas de *Piper imperiale*.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A caracterização química do óleo essencial de *Manekia obtusa* por CG-EM resultou na identificação de 22 constituintes, o qual revelou um cromatograma composto majoritariamente por sesquiterpenos oxigenados.

- A caracterização química por CG-EM do óleo essencial de *Piper cubataonum* revelou um óleo majoritariamente constituído por alilfenóis, sendo possível identificar 14 e 20 constituintes majoritários nas folhas e galhos, respectivamente.

- Entretanto, a análise dos óleos essenciais por Cromatografia em fase Gasosa Bidimensional Abrangente (CG×CG-EM), possibilitou a caracterização de 128 constituintes dos três óleos essenciais analisados, demonstrando a superior resolução de sinais sobrepostos na análise monodimensional, através da inserção de uma coluna na segunda dimensão.

- Através do estudo fitoquímico de *Manekia obtusa*, obteve-se como resultado o isolamento de cinco substâncias do extrato diclorometânico. Estas são as amidas aegelina e cinamamida e os esteroides estigmasterol, β -sitosterol e estigmast-4-en-3-ona.

- O estudo fitoquímico das raízes da espécie de *Piper cubataonum*, resultou no isolamento de onze substâncias, correspondendo a quatro alilfenóis, sendo eles miristicina, apiol, dilapiol e elemicina, duas lignanas sendo a *rel*-(7*R*,8*S*,7'*S*,8'*S*)-4',5'-metilenodioxi-3,4,5,3'-tetrametoxi-7,7'-epoxilignana e a epigrandisina, duas aristolactamas sendo a cefaranona B e piperolactama A e três esteroides, sendo eles β -sitosterol, estigmasterol e estigmast-4-en-2-ona, sendo os três últimos já isolados de *M. obtusa*.

- A atividade antimicrobiana apresentou-se forte para o extrato diclorometânico de *M. obtusa* e seu óleo essencial contra *C. albicans*, sendo superior ao antifúngico de referência. O óleo essencial das folhas e galhos de *P. cubataonum* apresentou atividade antimicrobiana forte para *Rhodococcus equi*.

- A atividade citotóxica apresentou-se moderada para o extrato diclorometânico de *M. obtusa* contra a célula de glioma.

- Foi possível sintetizar a estigmast-4-en-3-ona, (*R*)-6'-desmetoxi aegelina e (*S*)-aegelina. A síntese de (*S*)-aegelina foi realizada através de duas rotas de síntese, sendo que a segunda rota mostrou um rendimento global superior.

- O esteroide estigmast-4-en-3-ona, as misturas de amidas e a mistura de todos os constituintes com a amida (*S*)-aegelina, reduziram a taxa de sobrevivência nos ensaios inseticidas contra *S. exigua*. Além disso, a amida cinamamida e as misturas de amidas, causaram forte redução da massa da pupa e um aumento no tempo de desenvolvimento larval deste inseto.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, O. M.; IBRAHAIM, Z. Z. Chemical constituents of *Piper cuneifolium*, structure of a new neolignan. **Pharmazie**, v. 51, n. 3, p. 187-188, 1996.
- ACHENBACH, H.; FIETZ, W.; WÖRTH, J.; WAIBEL, R.; PORTECOP, J. Constituents of Tropical Medicinal Plants, IXX1 GC/MS-Investigations of the Constituents of *Piper amalago* - 30 New Amides of the Piperine-Type. **Planta Medica**, v. 52, n. 1, p. 12-18, 1986.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography, mass spectroscopy**. 4th ed. Carol Stream: Allured, 2007.
- AFROZE, S. D.; HAQUE, E.; SATO, M.; YAYASAKI, T. Lipophilic constituents of *Smilax roxburghiana*. **Natural medicines**, v. 58, n. 4, p. 160-164, 2004.
- AGARWAI, O. P. **Reactions and Reagents**. Krishna Prakashan, 2003.
- AHMAD, F.; KADIR, F. A. Chemical constituents from *Piper pedicellosum*. **ACGC Chemical Research Communications**, v. 10, p. 63-66, 2000.
- ALI, M. S.; TABASSUM, S.; OGUNWANDE, I. A.; PERVEZ, M. K. Naturally occurring antifungal aromatic esters and amides. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 32, n. 4, p. 565-70, 2010.
- ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ALVES, H. da S.; OLIVEIRA, G. E. D.; ZOGHBI, M. D. G.; CHAVES, M. C. de O. Flavonoids from *Piper carniconnectivum* C. DC. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 160-164, 2010.
- AL-YAHYA, M. A.; MUHAMMAD, I.; MIRZA, H. H.; EL-FERALY, F. S. Antibacterial constituents from the rhizomes of *Ferula communis*. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 5, p. 335-339, 1998.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes/Aromas. Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999 (DOU 17/05/1999).
- ARAÚJO JUNIOR, J. X.; CHAVES, M. C. de O.; da CUNHA, E. V. L.; GRAY, A. I. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, n. 3, p. 325-327, 1999.
- ARIAS, T.; POSADA, R. C.; BORNSTEIN, A. New Combinations in *Manekia*, an Earlier Name for *Sarcorhachis* (Piperaceae). **Novon**, v. 16, n. 2, p. 205-208, 2006.
- ARIAS, T.; WILLIAMS, J. H. Embryology of *Manekia naranjoana* (Piperaceae) and the origin of tetrasporic, 16-nucleate female gametophytes in Piperales. **American Journal of Botany**, v. 95, n. 3, p. 272-285, 2008.
- ASKINAZI, B. Z.; KIVOKURTSEVA, L. N.; BOBROVA, N. S.; KOZARINSKAYA, N. Y. Synthesis of 6-Sitosterol-¹⁴C. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 19, n. 10, p. 711-714, 1985.

ATTAR-UR-RAHMAN. M. I. C.; HAYAT, S.; KHAN, A. M.; AHMAD, A.; MALIK, S. Spatozoate and varninasterol from the brown alga *Spatoglossum variabile*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 3, p. 495-499, 1999.

BANDONI, A. L.; CZEPAK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: Edufes, 2008.

BANDYOPADHYAY, C.; NARAYAN, V. S.; VARIYAR, P. S. Phenolics of Green Pepper Berries (*Piper nigrum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 8, p. 1696-99, 1990.

BARATA, L. E. S.; BAKER, P. M.; GOTTLIEB, O. R.; RÙVEDA, E. A. Neolignans of *Viola surinamensis*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 4, p. 783-786, 1978.

BARROS, F. M. C. de; ZAMBARDA, E. O.; HEINZMANN, B. M.; MALLMANN, C. A. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.

BATISTA-PEREIRA, L. G. PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C.; da SILVA, M. F. G. F.; MALASPINA, O. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatilis* and *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 58, n. 5, p. 503-507, 2002.

BAYMA, J. de C.; ARRUDA, M. S. P.; MÜLLER, A. H.; ARRUDA, A. C.; CANTO, W. C. A dimeric ArC₂ compound from *Peperomia pellucida*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 779-782, 2000.

BENEVIDES, P. J. C.; SARTORELLI, P.; KATO, J. Phenylpropanoids and neolignans from *Piper regnellii*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 2, p. 339-343, 1999.

BENITEZ, N. P.; STASHENKO, E. E. Validación antibiótica de plantas medicinales del noroeste de Colombia contra *Staphylococcus aureus*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 8, n. 2, p. 145-150, 2009.

BERNARD, C. B.; KRISHANMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÉNE, B. J. R.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L. ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the Neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 6, p. 801-814, 1995.

BEZERRA, D. P.; CASTRO, F. O.; ALVES, A. P. N. N.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ELMIRO, F. J. M.; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by piplartine and piperine, two alkaloid amides from *Piper*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 6, p. 801-807, 2006.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOLL, P. M.; PRASAD, A. K.; TYAGI, O. D.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; KUMAR, N.; BISHT, K. S.; PARMAR, V. S. Neolignans, cyclohexanes and alkaloids from *Piper wightii*. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v. 115, n. 1, p. 9-12, 1996.

BORISOV, V. N.; BAN'KOVSKII, A. I.; SHEICHENKO, V. I.; PIMENOV, M. G. Myristicin from *Ferula equisetacea*. **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, v. 9, n. 2, p. 275-276, 1973.

BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. de O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 396–402, 2007.

BRASE, S.; GIL, C.; KNEPPER, K.; ZIMMERMANN, V. Organic Azides: an exploding diversity of a unique class of compounds. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 33, p. 5188 – 5240, 2005.

BRAVO, J. A.; SAUVAIN, M. Chemical education: Elemicin, a phenylpropanoid isolated from *Sparattanthelium amazonum*, as a didactical example of structural elucidation. **Revista Boliviana de Química**, v. 19, n. 1, p. 25-32, 2002.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n.3, p. 223-253, 2004.

CALIXTO, J. B. Medicamentos Fitoterápicos. In: CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. **Plantas medicinais sob ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001, p. 297-315.

CAMBIE, R. C.; LAL, A. R.; PAUSLER, M. G. Chemistry of Fijian plants, part 9. Constituents of *Degeneria vitiensis* heartwood. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 3, p. 265, 1992.

CARDOZO, E. L. JR.; CHAVES, M. C. O. Caldensin, a new natural n-methylaristolactam from *Piper caldense*. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 3, p. 216-218, 2003.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry: Part B: Reactions and Synthesis**. New York: Springer, 2007.

CARROLL, A. R.; TAYLOR, W. C. Constituents of *Eupomatia* Species. XII. Isolation of Constituents of the Tubers and Aerial Parts of *Eupomatia bennettii* and Determination of the Structures of New Alkaloids From the Aerial Parts of *E. bennettii* and Minor Alkaloids of *E. laurina*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 1615-1626, 1991.

CASTEDO, L.; SUAÚ, R.; MOURIÑO, A. A revised structure for pontevedrinene. **Tetrahedron Letters**, v.17, n. 6, p. 501-502, 1976.

CASTRAL, T. C. **Síntese e avaliação biológica de uma coleção de amidas**. 156f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade de São Carlos, São Carlos, 2008.

CERVI, A.C.; HATSCHBACH, G. G.; VON LINSINGEN, L. Composição florística de um trecho de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (Floresta Atlântica) na Reserva Ecológica de Sapitanduva (Morretes, Paraná, Brasil). **Fontqueria**, v. 55, n. 52, p.423-438, 2007.

CHAVERRI, C.; DÍAZ, C.; CICCIO, J. F. Leaf essential oil of *Manekia naranjoana* (Piperaceae) from Costa Rica and its cytotoxic activity. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 1, p. 145-148, 2011.

CHAVES, M. C. O.; OLIVEIRA, A. H.; SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, n. 1, p. 75-77, 2006.

CHEN, I. S.; CHEN, Y. C.; LIAO, C. H. Amides with anti-platelet aggregation activity from *Piper taiwanense*. **Fitoterapia**, v. 78, n. 6, 414-19, 2007.

CHEN, J. J.; HUANG, Y. C.; CHEN, Y. C.; HUANG, Y. T.; WANG, S. W.; PENG, C. Y.; TENG, C. M.; CHEN, I. S. Cytotoxic amides from *Piper sintenense*. **Planta Medica**, v. 68, n. 11, p. 980-985, 2002.

CHEN, J. J.; CHOU, E. T.; DUH, C. Y.; YANG, S. Z.; CHEN, I. S. New cytotoxic tetrahydrofuran-and dihydrofuran-type lignans from the stem of *Beilschmiedia tsangii*. **Planta medica**, v. 72, n. 4, p. 351, 2006.

CHEN, S.; HUANG, H.-Y.; CHENG, M.-J.; WU, C.-C.; ISHIKAWA, T.; PENG, C.-F.; CHANG, H.-S.; WANG, C.-J.; WONG, S.-L.; CHEN, I.-S. Neolignans and phenylpropanoids from the roots of *Piper taiwanense* and their antiplatelet and antitubercular activities. **Phytochemistry**, v. 93, p. 203-209. 2013.

CHEN, Y. C.; CHEN, J. J.; CHANG, Y. L.; TENG, C. M.; LIN, W. Y.; WU, C. C.; CHEN, I. S. A new aristolactam alkaloid and anti-platelet aggregation constituents from *Piper taiwanense*. **Planta Medica**, v. 70, n. 2, p. 174-177, 2004.

CHEN, Y. C.; LIAO, C. H.; CHEN, I. S. Lignans, an amide and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. **Phytochemistry**, v. 68, n.15, p. 2101-2111, 2007.

CHEN, Z. N.; YU, P. Z.; XU, P. J. Anti-platelet activating factor constituents, 2,5-diaryltetrahydrofuran type lignans, from *Piper futokadsura* Sied. et Zucc. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 18, n. 5, p. 292-294, 1993.

CHO, B. T.; KANG, S. K.; SHIN, S. H. Application of optically active 1,2-diol monotosylates for synthesis of -azido and -amino alcohols with very high enantiomeric purity. Synthesis of enantiopure (*R*)-octopamine, (*R*)-tembamide and (*R*)-aegeline. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 13, p. 1209–1217, 2002.

CHUAH, C. H.; YONG, H. S.; GOH, S. H. Methyl eugenol, a fruit-fly attractant, from the browning leaves of *Proiphys amboinensis* (Amaryllidaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n. 5, p. 391-393, 1997.

COSTANTIN, M. B.; SARTORELLI, P.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A. T.; STEPPE, M.; FERREIRA, M. J.; OHARA, M. T.; EMERENCIANO, V. P.; KATO, M. J. Essential Oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: Antimicrobial Activities and Analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. **Planta medica**, v. 67, n. 8, p. 771-773, 2001.

COREY, E. J.; GUZMAN-PEREZ, A. NOE, M. C. The application of a mechanistic model leads to the extension of the sharpless asymmetric dihydroxylation to allylic 4-methoxybenzoates and conformationally related amine and homoallylic alcohol derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 44, p. 10805-10816, 1995.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p. 500-506, 2011.

CORTEZ, N. A.; AGUIRRE, G.;, PARRA-HAKE, M.; SOMANATHAN, R. Synthesis of (*R*)-tembamide and (*R*)-aegeline via asymmetric transfer hydrogenation in water. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 24, n. 20, p. 1297–130, 2013.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. D.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 24, n. 2, p. 173-185, 2004.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova**, v. 23, n. 3, p. 357-369, 2000.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Biodiversidade: um componente essencial na descoberta de fármacos. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2007. p. 49–79.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2. ed. New York Botanical Garden: Bronx, 1988.

CUI, H.; XU, B.; WU, T.; XU, J.; YUAN, Y.; GU, Q. Potential antiviral lignans from the roots of *Saururus chinensis* with activity against Epstein-Barr virus lytic replication. **Journal of Natural Products**, DOI 10.1021/NP400757K, 2013.

CUNHA, A. P.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. Fármacos aromáticos (plantas aromáticas e óleos essenciais). In: CUNHA, A. P. In: **Farmacognosia e fitoquímica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005. p. 341- 412.

CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; SOLA, R. C.; VENEZIANI, S. R. A.; BASTOS, J. K. Lignans: Chemical and Biological Properties. In: RAO, V. **Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health**, Rijeka, Croatia, InTech, 2012. DOI: 10.5772/28471. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/phytochemicals-a-global-perspective-of-their-role-in-nutrition-and-health/lignans-chemical-and-biological-properties>>. Acesso em: 20/11/13.

DA ROCHA, A. B.; LOPES, R. M.; SCHWARTSMANN, G. Natural products in anticancer therapy. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 1, n. 4, p. 364-369, 2001.

DALLÜGE, J.; BEENS, J.; BRINKMAN, U. A. T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, n. 1-2, p. 69–108, 2003.

DANELUTTE, A. P.; COSTANTIN, M. B.; DELGADO, G. E.; BRAZ-FILHO, R.; KATO, M. J. Divergence of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum* and *P. crassinervium*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1425-1430, 2005.

DE DIAZ, A. M. P.; DIAZ, P. P.; NATHAN, P. J. Dioxoaporphine alkaloid and flavone from *Piper manausense* Yunk. **Revista Colombiana de Química**, v. 19, n. 2, p. 63-66, 1990.

DELGADO A, W.; AUVELLA M., E.; DE DIAZ, A. M. P. Benzylisoquinoline alkaloids from the stem of *Piper augustum* RUDGE. **Revista Colombiana de Química**, v. 27, n. 1, p. 13-21, 1998.

DESAI, S. J.; CHATURVEDI, R. N.; BADHEKA, L. P.; MULCHANDANI, N. B. Aristolactams and 4, 5-dioxoaporphines from Indian *Piper* species. **Indian Journal of Chemistry section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 9, p. 775-777, 1989.

DESAI, S. J.; CHATURVEDI, R.; MULCHANDANI, N. B. Piperolactam D, a new aristolactam from Indian *Piper* species. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 2, p. 496-497, 1990.

DESAI, S. J.; PRABHU, B. R.; MULCHANDANI, N. B. Aristolactams and 4,5-dioxoaporphines from *Piper longum*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 5, p. 1511-15, 1988.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 3 rd. Chichester: John Wiley e Sons, 2009.

DIAZ, P. P.; RAMOS, B. C.; MATTA, G. E. New C₆-C₃ and C₆-C₁ compounds from *Piper lenticellosum*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 4, p. 690-691, 1986

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

DRAGULL, K.; YOSHIDA, W. Y.; TANG, C. S. Piperidine alkaloids from *Piper methysticum*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 2, p. 193-198, 2003.

DUAN, S.; ZHANG, P.; YU, P. Neolignans and lignan from *Piper wallichii*. **China journal of Chinese Materia Medica**, v. 35, n. 2, p. 180, 2010.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305-311, 2005.

DYER, L. A.; LETOURNEAU, D. K.; DODSON, C. D.; TOBLER, M. A.; STIREMAN III, J. O.; HSU, A. Ecological causes and consequences of variation in defensive chemistry of a neotropical shrub. **Ecology**, v. 85, n. 10, p. 2795-2803, 2004.

DYER, L. A.; DODSON, C. D.; STIREMAN III, J. O.; TOBLER, M. A.; SMILANICH, A. M.; FINCHER, R. M.; LETOURNEAU, D. K. Synergistic effects of three *piper* amides on generalist and specialist herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 11, p. 2499-514, 2003.

DYER, L. A.; RICHARDS, J.; DODSON, C. D. Isolation, Synthesis, and Evolutionary Ecology of *Piper* Amides. In: DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. **Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology and Evolution**, 2004. p. 117-139.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

EE, G. C.; LIM, C. M.; LIM, C. K.; RAHMANI, M.; SHAARI, K.; BONG, C. F. J. Alkaloids from *Piper sarmentosum* and *Piper nigrum*. **Natural Product Research**, v. 23, n. 15, p. 1416-1423, 2009.

EE, G. C. L.; LIM, S. K.; LIM, C. M.; DZULKEFLY, K. Alkaloids and carboxylic acids from *Piper nigrum*. **Asian Journal of Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 5931-5940, 2008.

ELLIS, J.; GELLERT, E.; SUMMONS, R. E. Alkaloids of *Mitrella kentii* (Annonaceae). **Australian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 2735-2736, 1972.

ELLOF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

ESTRELA, J. L. V.; GUEDES, R. N.; MALTHA, C. R.; FAZOLIN, M. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 343-46, 2003.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; LIMA, A. D.; ARGOLO, V. M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle de vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa, Rio Branco – Acre, n. 37, p. 1-42, 2002.

FELICIANO, S.; PÉREZ, A. L.; OLMO, E. **Manual de determinación estructural de compuestos naturales**. Bogotá: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología. CYTED, 2007.

FELIPPE, L.; BALDOQUI, D. C.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. D. S.; GUIMARÃES, E. F.; CICARELLI, R. M. B.; FURLAN, M. Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 2, p. 445-450, 2007.

FENG, Y.; YANG, S.; WANG, Y.; FAN, M.; LUO, X.; RAO, Y.; ZHANG, X.; QIAN, X. Extraction method of total alkaloids from Chinese medicine *Piper*. **Faming Zhuanli Shenqing**, CN 101401850 A 20090408, 2009.

FERNANDES, G. G. **Avaliação Fitoquímica de *Sarcorhachis obtusa* – Piperaceae**. 80f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FOUCHE, G.; KHOROMBI, E.; KOLESHNIKOVA, N.; MAHARAJ, V. J.; NTHAMBELENI, R.; VAN DER MERWE, M. Investigation of South African plants for anticancer properties. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 494-500, 2006.

FUJII, A.; HASHIGUCHI, S.; UEMATSU, N.; IKARIYA, T.; NOYORI, R. Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Using a Formic Acid-Triethylamine Mixture. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 10, p. 2521–2522, 1996.

GAINES, R. B.; FRYSSINGER, G. S.; HENDRICK-SMITH, M. S.; STUART, J. D. Oil Spill Source Identification by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. **Environmental Science and Technology**, v. 33, n. 12, p. 2106-2112, 1999.

GALOTTA, A. L. Q. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açaí (*Euterpe precatoria* Mart., Arecaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 4, p.610-613, 2005.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; HAMERSKI, L.; MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapota*. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p.407-411, 2009.

GARCIA VEGA, M. R.; DE CARVALHO, M. G.; VELANDIA, J. R.; BRAZ-FILHO, R. Chemical constituents from *Piper fulvescens* - complete ¹H and ¹³C NMR assignments of neolignans and 3β-O-β-D-glucopyranosyl-5,6-epoxy-β-sitosterol. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 29, n. 2, p. 63-72, 2001.

GARCIA, G.; MENDOZA, V.; GUZMÁN, A.; GUTIÉRREZ, R. Constituents of *Peperomia campyloptopa*. **Fitoterapia**, v. 61, n. 1, p. 90, 1990.

GHOSH, K.; BHATTACHARYA, T. K. Chemical constituents of *Piper betle* Linn. (Piperaceae) roots. **Molecules**, v. 10, n. 7, p. 798-802, 2005.

GIESBRECHT, A. M.; FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R.; DA ROCHA, A. I. Chemistry of Brazilian Lauraceae. Neolignans of *Licaria canella*. **Phytochemistry**, v. 13, n. 10, p. 2285-2293, 1974.

GONZALEZ, A. G.; BARROSO, J. T.; LOPEZ DORTA, H.; LUIS, J. R. Components of Umbelliferae. XX. Components of *Heracleum pyrenaicum* Lam. **Anales de Quimica**, v. 74, n. 5, p. 832-834, 1978.

GONZALEZ, A. G.; DORTA, H.; HIERRO, I.; MEDINA, C.; LUIS, F. Components of Umbelliferae. XXIII. Chemical components from *Seseli webbiai* Cosson. **Anales de Quimica, Serie C: Quimica Organica y Bioquimica**, v. 78, n. 2, p. 274-275, 1982.

GONZALEZ, A. G.; BARRERA, J. B.; ARANCIBIA, L.; DÍAZ, J. G.; DE PAZ, P. P. Two phenylpropanoids from *Todaroa aurea* subsp. *suaveolens*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 4189-4190, 1991.

GONZALEZ, A. G.; BERMEJO, J.; VALENCIA, E. A new C₆-C₃ compound from *Cassia grandis*. **Planta Medica**, v. 62, n. 2, p. 176-177, 1996.

GOODYER, L.; BEHRENS, R. H. Short report: the safety and toxicity of insect repellents. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 2, p. 323-324, 1998.

GORDALIZA, M. Natural products as leads to anticancer drugs. **Clinical and Translational Oncology**, v. 9, n. 12, p. 767-776, 2007

GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*, atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos Jatrolonas A e B. **Química Nova**, v. 16, n. 2, p. 95-100, 1993.

GRANDE, M.; SEGURA, M.; MANCHENO, B. New kaurane diterpenoids from the roots of *Elaeoselinum tenuifolium*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 2, p. 259-264, 1986.

GRECA, M. D.; MONACO, P.; PREVITERA, L. Stigmasterols from *Typha latifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1430-1435, 1990.

GREGER, H.; PACHER, T.; VAJRODAYA, S.; BACHER, M.; HOFER, O. Intraspecific variation of sulfur-containing bisamides from *Aglaiia leptantha*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 5, p. 616-620, 2000.

GREIG, N. Introduction. In: DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. **Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology and Evolution**, 2004. p. 1-5.

GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia**, v. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

GUIMARÃES, E. F.; MONTEIRO, D. Piperaceae na Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 57, n. 3, p. 567-587, 2006.

GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G. Piperaceas 1. *Ottonia*, 2. *Sarcorrhachis*, 3. *Pothomorphe*. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1978.

GUPTA, S.; JHA A.; PRASAD A. K.; RAJWANSHI V. K.; JAIN S. C.; OLSEN C. E.; WENGEL J.; PARMAR V. S. A new amide, *N*-cinnamoylpyrrole and other constituents

from *Piper argyrophyllum*. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 38B, n. 7, p. 823-827, 1999.

GUTIERREZ, R. M. P.; GOZALEZ, A. M. N.; VADILLO, C. H. Alkaloids from *Piper*: A Review of its Phytochemistry and Pharmacology. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 163-193, 2013.

HAN, G. Q.; WEI, L. H.; LI, C. L.; QIAO, L.; JIA, Y. Z.; ZHENG, Q. T. The isolation and identification of PAF inhibitors from *Piper wallichii* (Miq.) Hand-Mazz and *P. hancei* Maxim. **Acta pharmaceutica Sinica**, v. 24, n. 6, p. 438, 1989.

HARBORNE, J. B. Twenty five years of chemical ecology. **Natural Products Reports**, v. 18, p. 361-379, 2001.

HASHIMOTO, K.; YANAGISAWA, T.; OKUI, Y.; IKEYA, Y.; MARUNO, M.; FUJITA, T. Studies on antiallergic components in the roots of *Asiasarum sieboldi*. **Planta medica**, v. 60, n. 2, p. 124-127, 1994.

HAYEK, S. A.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Antimicrobial Natural Products. In: MÉNDEZ-VILAS, A. **Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education**. Formatex Research Center, v. 2, p. 910-921, 2013.

HE, O.; LU, Y.; CAI, D.; CUI, Y.; LAI, J.; WANG, H. Analgesic Principles from Maoju (*Piper arboricola*). **Zhongcaoyao**, v. 12, n. 10, p. 433-435, 1981.

HENRIQUES, A. T.; SIMÕES-PIRES, C. A.; APEL, M. A. Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2007. p. 209-235.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HONDA, G.; KOEZUKA, Y.; TABATA, M. Isolation of dill apiole from a chemotype of *Perilla frutescens* as an active principle for prolonging hexobarbital-induced sleep. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 8, p. 3153-5, 1988.

HU, Q.; LI, X.; HUANG, H.; MU, H.; TU, P.; LI, G. Phenylpropanoids from the roots of *Codonopsis cordifolioides* and their biological activities. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 33, n. 1, p. 278-280, 2012.

IKEDA, R.; NAGAO, T.; OKABE, H.; NAKANO, Y.; MATSUNAGA, H.; KATANO, M.; MORI, M. Antiproliferative constituents in Umbelliferae plants. III. Constituents in the root and the ground part of *Anthriscus sylvestris* Hoffm. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, n. 5, p. 871-874, 1998.

JARAMILLO, M. A.; MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, n. 4, p. 706-716, 2001.

JARAMILLO, M. A.; MANOS, P. S.; ZIMMER, E. A. Phylogenetic Relationships of the Perianthless Piperales: Reconstructing the Evolution of Floral Development. **International Journal of Plant Sciences**, v. 165, n. 3, p. 403-416, 2004.

JAYASINGHE, L.; KUMARIHAMY, B. M.; JAYARATHNA, K. H. R.; UDISHANI, N. W. M.; BANDARA, B. M.; HARA, N.; FUJIMOTO, Y. Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusa*. **Phytochemistry**, v. 62, n. 4, p. 637-41, 2003.

JENSEN, S.; HANSEN, J.; BOLL, P. M. Lignans and neolignans from Piperaceae. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 523-530, 1993.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução a taxonomia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Nacional, 1984.

JOSHI, N. GARG, H. S. BHAKUNI, D. S. Chemical constituents of *Piper schmidii*: structure of a new neolignan schmiditin. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 2, p. 479-482, 1990.

KABALKA, G. W.; VARMA, M.; VARMA, R. S.; SRIVASTAVA, P. C.; KNAPP JR, F. F. Tosylation of Alcohols. **Journal of Organic Chemistry**, v. 51, n. 12, p. 2386-2388, 1986.

KAMAL, A.; SHAIK, A. A.; SANDBHOR, M.; MALIK, M. S. Chemoenzymatic synthesis of (*R*)- and (*S*)-tembamide, aegeline and denopamine by a one-pot lipase resolution protocol. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 15, n. 24, p. 3939–3944, 2004.

KAWANO, D. F. **Síntese de derivados do fator de agregação plaquetária imobilizados em resina e identificação do correspondente receptor em *Trypanossoma cruzi***. 128f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

KIM, K. H.; CHOI, J. W.; HA, S. K.; KIM, S. Y.; LEE, K. R. Neolignans from *Piper kadsura* and their anti-neuroinflammatory activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 1, p. 409–412, 2010.

KIM, K. H.; CHOI, J. W.; CHOI, S. U.; HA, S. K.; KIM, S. Y.; PARK, H. J.; LEE, K. R. The chemical constituents of *Piper kadsura* and their cytotoxic and anti-neuroinflammatory activities. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 254-260, 2011.

KIUCHI, F.; NAKAMURA, N.; SAITOH, M.; KOMAGOME, K.; HIRAMATSU, H.; TAKIMOTO, N.; AKAO, N.; KONDO, K.; TSUDA Y. Synthesis and nematocidal activity of aralkyl- and aralkenylamides related to piperamide on second-stage larvae of *Toxocara canis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, n. 45, n. 4, p. 685-96, 1997.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KOLB, H. C.; VANNIEUWENZHE, M. S.; SHARPLESS, K. B. Catalytic Asymmetric Dihydroxylation. **Chemical Reviews**, v. 94, p. 2483-2547, 1994.

KONISHI, T.; KONOSHIMA, T.; DAIKONYA, A.; KITANAKA, S. Neolignans from *Piper futokadsura* and their inhibition of nitric oxide production. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 1, p. 121-124, 2005.

KOROISHI, A. M.; FOSS, S. R.; CORTEZ, D. A.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. *In vitro* antifungal activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* against dermatophytes. **Journal of ethnopharmacology**, v. 117, n. 2, p. 270-277, 2008.

KOSER, G. F. [Hydroxy(tosyloxy)iodo]benzene and Closely Related Iodanes: The Second Stage of Development. **Aldrichimica Acta**, v. 34, n. 3, p. 89-102, 2001.

KOSER, G. F.; RELENYI, A. G.; KALOS, A. N.; REBROVIC, L.; WETTACH, R. H. One-Step α -Tosyloxylation of Ketones with [Hydroxy (tosyloxy) iodo]benzene. **Journal of Organic Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 2487-2489, 1982.

KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; KÖHLER, I.; TOFERN-REBLIN, B.; SIEMS, K.; BIENZLE, U.; EICH, E. Antiplasmodial activity of sesquilignans and sesquieolignans from *Bonamia spectabilis*. **Phytochemistry**, v. 60, n. 2, p. 167-173, 2002.

KUMAR, V.; PRASAD, A. K.; PARMAR, V. S. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities. **Natural Product Reports**, v. 20, n. 6, p. 565-583, 2003.

KÜRTI, L. CZAKÓ, B. **Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis**. Elsevier, 2005.

LANGE, G. L.; ORGAN, M. G.; RUANGRUNGSI, N.; PRATHANTURARUG, S. Studies on Thai Medicinal Plants. An *N*-methyl aristolactam and an oxygenated cyclohexane derivative from *Piper ribesioides*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2397-2400, 1992.

LEE, D. M.; LEE, J. C.; JEONG, N.; LEE, K. I. Asymmetric transfer hydrogenation of 2-tosyloxy-1-(4-hydroxyphenyl)ethanone derivatives: synthesis of (*R*)-tembamide, (*R*)-aegeline, (*R*)-octopamine, and (*R*)-denopamine. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 18, n. 22, p. 2662-2667, 2007.

LEE, D. M.; KWAK, H.; LEE, K. I. Highly Enantioselective Rh-catalyzed Transfer Hydrogenation of α -Functionalized Arylketones. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 30, n. 6, p. 1317-1324, 2009.

LEE, H. S.; KIM, S. H.; KIM, J. N. Facile One-Pot Synthesis of Cinnamamides from Aromatic Aldehydes and Acetonitrile with Me₃SiOK. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 32, n. 5, p. 1748-1750, 2011.

LEITE, A. C. C.; KATO, M. J.; SOARES, R. O.; GUIMARÃES, A. E.; SANTOS-MALLET, J. R.; CABRAL, M. M. Grandisin caused morphological changes larval and toxicity on *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 3, p. 517-521, 2012.

LE-VAN, N.; PHAM, T. V. C. Viscidic acid A and B, two ent-labdane derivatives from *Chrysothamnus viscidiflorus*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 9, p. 1971-1974, 1980.

LI, C.-Y.; TSAI, W.-J.; DAMU, A. G.; LEE, E.-J.; WU, T.-S.; DUNG, N. X.; THANG, T. D.; THANH, L. Isolation and Identification of Antiplatelet Aggregatory Principles from the Leaves of *Piper lolot*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9436-9442, 2007.

LI, J. J.; CORE, E. J. **Name Reactions of Functional Group Transformations**. Wiley, John and Sons, 2007.

LICHTFOUSE, E.; ALBRECHT, P. Synthesis of Triaromatic Steroid Hydrocarbons Methylated at Position 2, 3 or 6: Molecular Fossils of Yet Unknown Biological Origin. **Tetrahedron**, v. 50, n. 6, p. 1731-1744, 1994.

LIN, C.F.; HWANG, T. L.; CHIEN, C. C.; TU, H. Y.; LAY, H. L. A new hydroxychavicol dimer from the roots of *Piper betle*. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 2563-2570, 2013.

LIN, L. C.; SHEN, C. C.; SHEN, Y. C.; TSAI, T. H. Anti-inflammatory neolignans from *Piper kadsura*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 5, p. 842-844, 2006.

LIN, W. H.; FU, H. Z.; HANO, Y.; NOMURA, T. Alkaloids from the roots of *Aristolochia triangularis* (l). **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 8-13, 1997.

LIU, W.; JIANG, Z.; CHEN, J.; ZHANG, X.; MA, Y. Chemical constituents from *Piper longum*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 34, n. 22, p. 2891-2894, 2009.

LODER, J. W.; NEARN, R. H. Constituents from *Piper banksii*. **Phytochemistry**, v. 11, n. 8, p. 2645-6, 1972.

LU, N.; GUO, F.; ZHAO, D.; TONG, J.; GUO, W.-S. Selective isolation of myristicine from *Ligusticum sinense* Oliv by second-sphere coordination inclusion crystallization. **Yingyong Huaxue**, v. 27, n. 8, p. 939-943, 2010.

MA, Y.; HAN, G. Q.; LI, C. L.; CHENG, J. R.; ARISON, B. H.; HWANG, S. B. Neolignans from *Piper polysyphorum* C. DC. **Acta pharmaceutica Sinica**, v. 26, n. 5, p. 345-350, 1991.

MACRAE, W. D.; TOWERS, G. H. N. Biological activities of lignans. **Phytochemistry**, v. 23, n. 6, p. 1207-1220, 1984.

MAGINA, M. D. A.; DALMARCO, E. M.; WISNIEWSKI JR, A.; SIMIONATTO, E. L.; DALMARCO, J. B.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. **Journal of Natural Medicines**, v. 63, n. 3, p. 345-350, 2009.

MAIA, J. G. S.; SILVA, M. L. da; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. **Química Nova**, v. 10, n. 3, p. 200-204, 1987.

MANALO, J. B.; HAN, B. H.; HAN, Y. H.; PARK, M. H.; ANZALDO, F. E. Studies on ether-soluble neutral compounds of *Peperomia pellucida*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 6, n. 2, p. 133-136, 1983.

MARCANO, D.; HASEGAWA, M.; CASTALDI, A. Neutral compounds and alkaloids of *Zanthoxylum ocumarensense*. **Phytochemistry**, v.11, n. 4, p.1531-2, 1972.

MARQUES, A. M.; VELOZO, L. S.; DE MOREIRA, D. L.; GUIMARAES, E. F.; KAPLAN, M. A. Aristolactams from roots of *Ottonia anisum* (Piperaceae). **Natural Product Communications**, v. 6, n. 7, p. 939-942, 2011.

MARQUES, A. M.; BARRETO, A. L. S.; CURVELO, J. A. da R.; CASTRO, A. P.; ENGLISH, M.; SOUZA, A. P. F. de; SILVA, E. P. da; GUIMARÃES, E. F.; SOARES, R. M. de A.; KAPLAN, M. A. C.; VELOZO, L. S. M. Chemical diversity and leishmanicidal activity of *Manekia obtusa* Miq (Piperaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 46, p. 3367-3374, 2013.

MARQUES, J. V. **Atividade biológica de amidas e análogos de espécies de *Piper* e estudos biossintéticos**. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MARQUES, J. V.; KITAMURA, R. O. S.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; GUIMARÃES, E. F.; KATO, M. J. Antifungal Amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 2036-2039, 2007.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K.; MSONTHI, J. D. Isolation of antifungal and larvicidal constituents of *Diplolophium buehneri* by centrifugal partition chromatography. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 1, p. 128-30, 1995.

MARTINS, R. C. C.; LATORRE, L. R.; SARTORELLI, P.; KATO, M. J. Phenylpropanoids and tetrahydrofuran lignans from *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 843-846, 2000.

MARTINS, R. C. C.; LAGO, J. H. G.; ALBUQUERQUE, S.; KATO, M. J. Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from inflorescences of *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 667-670, 2003.

MATA, R.; MORALES, I.; PÉREZ, O.; RIVERO-CRUZ, I.; ACEVEDO, L.; ENRIQUEZ-MENDOZA, I.; BYE, R.; FRANZBLAU, S.; TIMMERMANN, B. Antimycobacterial Compounds from *Piper sanctum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 12, p. 1961-1968, 2004.

MATEUS, E.; BARATA, R. C.; ZROSTLÍKOVÁ, J.; SILVA, M. D. G. da; PAIVA, M. R. Characterization of the volatile fraction emitted by *Pinus* spp. by one- and two-dimensional chromatographic techniques with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 11, p. 1845-1855, 2010.

MAXWELL, A.; RAMPERSAD, D. P-Phenylethylamine-derived amides from *Piper Guayanum*. **Journal of Natural Product**, v. 53, n. 2, p. 411-14, 1989.

MCDONALD, R. A.; SEIFERT, C. F.; LORENZET, S. J.; GIVENS, S.; JACCARD, J. The effectiveness of methods for analyzing multivariate factorial data. **Organizational Research Methods**, v. 5, n. 3, p. 255-274, 2002.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**. v. 2. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

MEDEIROS, E. S. S. **Flora do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil - família Piperaceae**. 143f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Escola Nacional de Botânica Tropical do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

MEEPAGALA, K. M.; OSBRINK, W.; STURTZ, G.; LAX, A. Plant-derived natural products exhibiting activity against *Formosan subterranean* termites (*Coptotermes formosanus*). **Pest Management Science**, v. 62, n. 6, p. 565-570, 2006.

MENDEZ, J. Phenolic constituents of *Thapsia villosa* L. fruits. **Revista - Real Academia Galega de Ciencias**, n. 21, p. 53-56, 2002.

MESQUITA, J. M. O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A. P.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

MIKOLAJCZAK, K. L.; ZILKOWSKI, B. W.; BARTELT, R. J. Effect of Meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 1, p. 121, 1989.

MITSUHASHI, H.; MURAMATSU, T.; NAGAI, U.; NISHI, I. Isolation of myristicin from *Ligusticum scoticum*. **Yakugaku Zasshi**, v. 79, p. 106-108, 1959.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; YOSHIOKA, H. Insecticidal joint action of piperidine and co-occurring compounds isolated from *Piper nigrum* L. **Journal Agricultural and Biological Chemistry**, v. 44, n. 7, p. 1701-03, 1980.

MIYAZAWA, M.; KOHNO, G. Suppression of chemical mutagen-induced SOS response by allylbenzenes from *Asiasarum heterotropoides* in the *Salmonella typhimurium* TA1535/PSK1002 umu test. **Natural Product Research**, v. 19, n. 1, p. 29-36, 2005.

MOHAMMAD, I.; WATERMAN, P. G.; THOMAS, D. W. Chemistry in the Annonaceae. XVII. Phenylpropenes from *Uvariodendron connivens* seeds. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 2, p. 328-329, 1985.

MONDELLO, L.; TRANCHIDA, P. Q.; DUGO, P.; DUGO, G. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: a review. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 27, n. 2, p. 101–124, 2008.

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A.; GRAY-GOODRICH, M.; CAMPBELL, H.; MAYO, J.; BOYD, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, n. 11, p. 757-766, 1991.

MONTEIRO, D. GUIMARÃES, E. F. Flora do Parque Nacional do Itatiaia – Brasil: *Peperomia* (Piperaceae). **Rodriguésia**, v. 59, n. 1, p. 161-195, 2008.

MONTEIRO, D. GUIMARÃES, E. F. Flora do Parque Nacional Do Itatiaia – Brasil: *Manekia* e *Piper* (Piperaceae). **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 999-1024, 2009.

MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MORRIS, R. H. Asymmetric hydrogenation, transfer hydrogenation and hydrosilylation of ketones catalyzed by iron complexes. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 8, p. 2282–2291, 2009.

MOSS, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1493–1523, 2000.

MOULTON, J. K.; PEPPER, D. A.; DENNEHY, T. J. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. **Pest Management Science**, v. 56, n. 10, p. 842-48, 2000.

MOURA, V. L. A.; MONTE, F. J. O.; BRAZ FILHO, R. A new casbane-type diterpenoid from *Croton nepetaefolius*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1566-1571, 1990.

MÜHLEN, C. V.; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B.; MARRIOTT, P. J. Nomenclatura na língua portuguesa em cromatografia multidimensional abrangente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 682-687, 2007.

MUKHTAR, M. R.; OSMAN, N.; AWANG, K.; HAZNI, H.; QURESHI, A. K.; HADI, A. H. A.; ZAIMA, K.; MORITA, H.; LITAUDON, M. Neonaucline, a new indole alkaloid from the leaves of *Ochreinauclea maingayii* (Hook. f.) Ridsd. (Rubiaceae). **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 267-274, 2012.

MURTINHO, D. M. B. **Desenvolvimento de novos catalisadores quirais para alquilação e redução**. 194f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia de Coimbra, Coimbra, 2006.

NABANA, T.; TOGO H. Reactivities of Novel [Hydroxy(tosyloxy)iodo]arenes and [Hydroxy(phosphoryloxy)iodo]arenes for r-Tosyloxylation and r-Phosphoryloxylation of Ketones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 12, p. 4362-4365, 2002.

NAIR, M. G.; SOMMERVILLE, J.; BURKE, B. A. Phenylpropenoids from roots of *Piper auritum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 654-655, 1989.

NAKATANI, N.; INATANI, R.; FUWA, H. Structures and syntheses of two phenolic amides from *Piper nigrum* L. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 2831-2836, 1980.

NARENDER, T.; SHWETA, S.; TIWARI, P.; REDDY, K. P.; KHALIQ, T.; PRATHIPATI, P.; PURI, A.; SRIVASTAVA, A. K.; CHANDER, R.; AGARWAL, S. C.; RAJ, K. Antihyperglycemic and antidyslipidemic agent from *Aegle marmelos*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 6, p. 1808-1811, 2007.

NASCIMENTO, J. C.; PAULA, V. F. D.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Occurrence, biological activities and ^{13}C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2288-2311, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NGUYEN, D. T.; NGUYEN, C. B.; PHAN, V. K. Study on the chemical composition of *Asarum petelotii* O. C. Schmidt. of Tam Dao (Vinh Phuc). **Tap Chi Duoc Hoc**, v. 47, n. 9, p. 30-33, 2007.

NINOVA, P.; KOBILICOVA, Z.; TROJANEK, J. Alkaloids. XLVII. Isolation of (*E*)-cinnamamide from *Verbascum pseudonobile* Stoj. et Stef. (Scrophulariaceae). **Cesko-Slovenska Farmacie**, v. 33, n. 2, p. 66-7, 1984.

NOBATHIAN, S.; TUCHINDA, P.; SOORUKRAM, D.; POHMAKOTR, M.; REUTRAKUL, V.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWA, C. A new conjugated amide-dimer from the aerial parts of *Piper submultinerve*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 19, p. 1824-1830, 2012.

NOYORI, R.; YAMAKAWA, M.; HASHIGUCHI, S. Metal-Ligand Bifunctional Catalysis: a Nonclassical Mechanism for Asymmetric Hydrogen Transfer between Alcohols and Carbonyl Compounds. **Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 24, p. 7931-7944, 2001.

OKUNADE, A. L.; HUFFORD, C. D.; CLARK, A. M.; LENTZ, D. Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 2, p. 142-144, 1997.

OLSEN, C. E.; TYAGI, O. D.; BOLL, P. M.; HUSSAINI, F. A.; PARMAR, V. S.; SHARMA, N. K.; TANEJA, P.; JAIN, S. C. An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of piperolactam B and D. **Phytochemistry**, v. 33, n. 2, p. 518-20, 1993.

ONODY, H. C. **Estudo da fauna de Hymenoptera parasitoides associados a hortas orgânicas e da utilização de extratos vegetais no controle de *Plutella xylostella***

(**Lepidoptera, Plitellidae**). 127f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade de São Carlos, 2009.

ORJALA, J.; WRIGHT, A. D.; RALI, T.; STICHER, O. Aduncamide, a Cytotoxic and Antibacterial b-Phenylethylamine-Derived Amide from *Piper aduncum*. **Natural Product Letters**, v. 2, n. 3, p. 231-36, 1993.

PARANJPE, R.; GUNDALA, S. R.; LAKSHMINARAYANA, N.; SAGWAL, A.; ASIF, G., PANDEY, A.; ANEJA, R. *Piper betel* leaf extract: anticancer benefits and bio-guided fractionation to identify active principles for prostate cancer management. **Carcinogenesis**, doi: 10.1093/carcin/bgt066, 2013.

PARK, B. S.; LEE, S. E.; CHOI, W. S.; JEONG, C. Y.; SONG, C.; CHO, K. Y. Insecticidal and acaricidal activity of pipernonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. **Crop Protection**, v. 21, n. 3, p. 249-51, 2002.

PARKER, J. D.; COLLINS, D. O.; KUBANEK, J.; SULLARDS, M. C.; BOSTWICK, D.; HAY, M. E. Chemical Defenses Promote Persistence of the Aquatic Plant *Micranthemum umbrosum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 815-833, 2006.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLLL, P. M. Phytochemistry of the Genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 591-673, 1997.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; GUPTA, S.; TALWAR, S.; RAJWANSHI, V. K.; KUMAR, R.; AZIM, A.; MALHOTRA, S.; KUMAR, N.; JAIN, R.; SHARMA, N. K.; TYAGI, O. D.; LAWRIE, S. J.; ERRINGTON, W.; HOWARTH, O. W.; OLSEN, C. E.; SINGH, S. K.; WENGE, J. Polyphenols and alkaloids from *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 49, n. 4, p. 1069-1078, 1998.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. D. A.; DEMUNER, A. J.; PILÓ-VELOSO, D.; PICANÇO, M. C. Synthesis and insecticidal activity of new amide derivatives of piperine. **Pest Management Science**, v. 56, n. 2, p.168-74, 2000.

PAULI, A. Antimicrobial properties of essential oil constituents. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 11, n. 3, p. 126-133, 2001.

PEACH, P.; CROSS, D. J.; KENNY, J. A.; MANN, I.; HOUSON, I.; CAMPBELL, L.; WALSGROVE, T.; WILLS, M. Asymmetric transfer hydrogenation of α,β -unsaturated, α -tosyloxy and α -substituted ketones. **Tetrahedron**, v. 62, n. 23, p. 1864–1876, 2006.

PEDROSO, M. P.; GODOY, L. A. F. D.; FIDÉLIS, C. H. D. V.; FERREIRA, E. C.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 421-430, 2009.

PENA, L. A.; AVELLA, E.; DIAZ, A. M. P. Benzoquinona e hidroquinona preniladas y otros constituyentes aislados de *Piper bogotense* C. DC. **Revista Colombiana de Química**, v. 29, n. 2, p.25-37, 2000.

PENA, L. A.; DIAZ, A. M. P. Aristolactam and sterols from the stem of *Piper chiadoense*. **Revista Colombiana de Química**, v. 24, n. 1, p. 17-23, 1995.

PESSINI, G. L.; DIAS FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 8, p. 1115-1120, 2003.

PIGMAN, W. W. **The Carbohydrates: Chemistry, Biochemistry, Physiology**. Academic Press, 1957.

POSSO, R. O.; DIAZ, P. P.; DIAZ, A. M. P. Estudio químico de *Piper steerni*. **Revista Colombiana de Química**, v. 23, n. 1, p. 53-61, 1994.

PRASAD, A. K.; TYAGI, O. D.; WENGEL, J.; BOLL, P. M.; OLSEN, C. E.; SHARMA, N. K.; BISHT, K. S.; GUPTA, S.; PARMAR, V. S. Lignans and Neolignans from Stems and Fruits of *Piper wightii*. **Tetrahedron**, v. 50, n. 7, p. 2231-2240, p. 1994.

PRASAD, A. K.; TYAGI, O. D.; WENGEL, J.; BOLL, P. M.; OLSEN, C. E.; GUPTA, S.; SHARMA, N. K.; BISHT, K. S.; PARMAR, V. S. Lignans and Neolignans From Stems of *Piper wightii*. **Tetrahedron**, v. 50, n. 35, p. 1079-10586, 1994.

PRASAD, A. K.; TYAGI, O. D.; WENGEL, J.; BOLL, P. M.; OLSEN, C. E.; BISHT, K. S.; SINGH, A.; SARANGI, A.; KUMAR, R.; JAIN, S. C.; PARMAR, V. S. Neolignans and a lignan from *Piper clarkii*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 655-658, 1995.

PRING, B. G. Isolation and identification of amides from *Piper callosum*. Synthesis of pipercollosine and pipercollosidine. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, v. 1, n. 0, p. 1493-98, 1982.

RAMIREZ, R. R. A. **Abordagem fitoquímica de uma espécie da família Flacourtiaceae – Casearia arborea (Rich.) Urb.** 148f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

RAMOS, C. S.; KATO, M. J. Secondary Metabolites from the Phloem of *Piper solmsianum* (Piperaceae) in the Honeydew of *Edessa meditabunda*. **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 6, p. 604-606, 2012.

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; YOSHINARI, T.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; REZAEI, M. B.; NAGASAWA, H.; SAKUDA, S. Dillapiol and apiol as specific inhibitors of the biosynthesis of aflatoxin G1 in *Aspergillus parasiticus*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 71, n. 9, p. 2329-2332, 2007.

RICHARDS, L.; DYER, L. A.; SMILANICH, A. M.; DODSON, C. D. Synergistic effects of amides from two *Piper* species on generalist and specialist herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 10, p. 1105-13, 2010.

ROWLANDS, G. **Reduction and Oxidation**, 2002. Disponível em: <<http://www.sussex.ac.uk/Users/kafj6>>.

RUIZ, C.; HADDAD, M.; ALBAN, J.; BOURDY, G.; REATEGUI, R.; CASTILLO, D.; SAUVAIN, M.; DEHARO, E.; ESTEVEZ, Y.; AREVALO, J.; ROJAS, R. Activity-guided isolation of antileishmanial compounds from *Piper hispidum*. **Phytochemistry letters**, v. 4, n. 3, p. 363-66, 2011.

RUKACHAISIRIKUL, T.; SIRIWATTANAKIT, P.; SUKCHAROENPHOL, K.; WONGVEIN, C.; RUTTANAWANG, P.; WONGWATTANAVUCH, P.; SUKSAMRARN, A. Chemical constituents and bioactivity of *Piper sarmentosum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 173-176, 2004.

SADYANDY, R.; FERNANDES, R. A.; KUMAR, P. An asymmetric dihydroxylation route to (R)-(-)-octopamine, (R)-(-)-tembamide and (R)-(-)-aegeline. **Arkivoc**, v. 3, p. 36-43, 2005.

SALEEM, M.; NAZIR, M.; ALI, M. S.; HUSSAIN, H.; LEE, Y. S.; RIAZ, N.; JABBAR, A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Natural product reports**, v. 27, n. 2, p. 238-254, 2010.

SANTOS, B. V. O.; CHAVES, E. V.; GRAY, A. I. Phenylalkanoids from *Piper marginatum*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 5, p.1381-1384, 1998.

SANTOS, T. G.; REBELO, R. A.; DALMARCO, E. M.; GUEDES, A.; GASPER, A. L.; CRUZ, A. B.; SCHMIT, A. P.; CRUZ, R. C. B.; STEINDEL, M.; NUNES, R. K. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. PRESL.) C. DC. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 477-481, 2012.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SCHUBERT, H. K.; TAYLOR, M. S.; SMITH, J. F.; BORNSTEIN, A. J. A Systematic Revision of the Genus *Manekia* (Piperaceae). **Systematic Botany**, v. 37, n. 3, p. 587-598, 2012.

SCOTT, I. M.; PUNIANI, E.; DURST, T.; PHELPS, D.; MERALI, S.; ASSABGUI, R. A.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; PHILOGÉNE, B. J. R.; ARNASON, J. T. Insecticidal activity of *Piper tuberculatum* Jacq. extracts: Synergistic interaction of Piperamides. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2002.

SCOTT, I.; JENSEN, H.; NICOL, R.; LESAGE, L.; BRADBURY, R.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; ARNASON, J. T.; PHILOGÉNE, B. J. R. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) Extracts for Control of Common Home and Garden Insect Pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 4, p. 1390-1403, 2004.

SCRIVEN, E. F. V.; TURNBULL, K. Azides: Their Preparation and Synthetic Uses. **Chemical Reviews**, v. 88, n. 2, p. 297-365, 1988.

SENGUPTA, S.; RAY, A. B. The chemistry of *Piper* species: a review. **Fitoterapia**, v. 58, n. 3, p. 147-166, 1987.

SHARPLESS, K. B.; AMBERG, W.; BENNANI, Y. L.; CRISPINO, G. A.; HARTUNG, J.; JEONG, K. S.; KWONG, H. L.; MORIKAWA, K.; WANG, Z. M. The Osmium-Catalyzed Asymmetric Dihydroxylation: A New Ligand Class and a Process Improvement. **Journal of Organic Chemistry**, v. 57, n. 10, p. 2768-2771, 1992.

SHELLIE, R. A.; MARRIOTT, P. J.; HULE, C. W. Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) and GCxGC-quadrupole MS analysis of Asian and American ginseng. **Journal of Separation Science**, v. 26, n. 12-13, p. 1185-1192, 2003.

SHELLIE, R.; MONDELLO, L.; MARRIOTT, P.; DUGO, G. Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 970, n. 1-2, p. 225-234, 2002.

SHELLIE, R.; MARRIOTT, P. Opportunities for ultra-high resolution analysis of essential oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography: a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 179-191, 2003.

SHEN, W. W.; LI, W.; WANG, G.-C.; WU, X.; YE, W.-C.; LI, Y.-L. Chemical constituents of *Clausena lansium*. **Jinan Daxue Xuebao**, v. 33, n. 5, p. 506-9, 2012.

SHIN-FOON, C.; YU-TONG, Q. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China. **Journal Applied Entomology**, v. 116, n. 1-5, p. 479-86, 1993.

SILVA, M. D. R. G. da; CARDEAL, Z.; MARRIOT, P. J. **Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography: Application to Aroma and Essential Oil Analysis**. In: TAMURA, H.; EBELER, S. E.; KUBOTA, K.; TAKEOKA, G. R. Food Flavor: chemistry, sensory evaluation, and biological activity. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2008, p. 3-24.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETRVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

SINGH, J.; ATAL, C. K. Genus *Piper*. **Indian Journal of Pharmacy**, v. 31, n. 5, p. 129-30, 1969.

SINGH, S. K.; ASHOK, P. K.; OLSEN, C. E.; JHA, A.; JAIN, S. C.; PARMAR, V. S.; WENGE, J. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophyllum*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1355-1360, 1996.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of National Cancer Institute**, v. 82, n.13, p. 1107-1112, 1990.

SMITH, G. V.; NOTHEISZ, F. **Heterogeneous Catalysis in Organic Chemistry**. Academic Press, 1999.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's Advanced Organic Chemistry: reactions, mechanisms, and structure**. 6 ed. New Jersey: John Wiley and Sons, 2007.

SONG, H. Y.; YANG, J. Y.; SUH, J. W.; LEE, H. S. Acaricidal Activities of Apiol and Its Derivatives from *Petroselinum sativum* Seeds against *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, and *Tyrophagus putrescentiae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7759-7764, 2011.

SOUZA, A. P. F. **Química e Atividade Biológica de *Sarcorrhachis obtusa* (Miq.)-(Piperaceae)**. 102f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SPAHN, C. W. **Transfer Hydrogenation: Emergence of the Metal-Ligand Bifunctional Mechanism**, 2002. Disponível em: <http://www.chemistry.illinois.edu/research/inorganic/seminar_abstracts/2002-2003/Spahn.Abstract.LitSeminar.pdf>. Acesso em: 07/09/13.

SRIVASTAVA, S.; GUPTA, M. M.; PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; KUMAR, S. Insecticidal activity of myristicin from *Piper mullesua*. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 3, p. 226-229, 2001.

SU, H. C. F.; HORVAT, R. Isolation, identification, and insecticidal properties of *Piper nigrum* amides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 115–18, 1981.

SUMATHYKUTT, M. A.; RAO, J. M. 8-Hentriacontanol and other constituents from *Piper attenuatum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 6, p. 2075-2076, 1991.

SUNILA, E. S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2, p. 339-346, 2004.

SWINEHART, J. A.; STERMITZA, F. R. Bishordeninyl terpene alkaloids and other constituents of *Zanthoxylum culantrillo* and *Z. coriaceum*. **Phytochemistry**, v.19, n. 6, p.1219-1223, 1980.

TABOPDA, T. K.; NGOUPAYO, J.; LIU, J.; MITAINE-OFFER, A.-C.; TANOLI, S. A. K.; KHAN, S. N.; SHAIQ ALI, M.; NGADJUI, B. T.; TSAMO, E.; LACAILE-DUBOIS, M.-A.; LUU, B. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1726–1731, 2008.

TABUDRAVU, J. N.; JASPARS, M. Anticancer activities of constituents of kava (*Piper methysticum*). **The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences**, v. 23, n. 1, p. 26-29, 2005.

TADEU, L. F. **Insetos: amigos ou inimigos naturais?** Sociedade Nacional da Agricultura, ano 102, n. 630, 1999.

TANG, G. H.; CHEN, D. M.; QIU, B. Y.; SHENG, L.; WANG, Y. H.; HU, G. W.; ZHAO, F. W.; MA, L. J.; WANG, H.; HUANG, Q. Q.; XU, J. J.; LONG, C. L.; LI, J. Cytotoxic Amide Alkaloids from *Piper boehmeriaefolium*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 1, p. 45-49, 2011.

TANZUBIL, P. B.; MCCAFFERY, A. R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v. 9, n. 5, p. 383, 1990.

TEIXEIRA, A. F.; YOSHIDA, M.; DE JESUS, M. A.; NUNOMURA, S. M. Plant extracts with antimicrobial neolignans, their composition and process for extract production. WIPO Patent n. 2009082794, 10 jul. 2009.

TIPSON, R. S. On esters of *p*-toluenesulfonic acid. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 235–241, 1944.

TOJO, G.; FERNÁNDEZ, M. **Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones: A Guide to Current Common Practice**. Springer, 2006.

TROST, B. M. **Comprehensive Organic Synthesis: Reduction**. v. 8. Elsevier, 1991.

TSAI, I. L.; LEE, F. P.; WU, C. C.; DUH, C. Y.; ISHIKAWA, T.; CHEN, J. J.; CHEN, Y. C.; SEKI, H.; CHEN, I. S. New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. **Planta Medica**, v. 71, n. 6, p. 535-542, 2005.

TUNCAY, A.; DUSTMAN, J. A.; FISHER, G.; TUNCAY, C. I. Ultrasound Promoted Hypervalent Iodine Reactions: α -Tosyloxylation of Ketones with [Hydroxy(Tosyloxy)Iodo]Benzene. **Tetrahedron Letters**, v. 33. n. 50, p. 7647-7650, 1992.

TYAGI, O. D.; JENSEN, S.; BOLL, P. M.; SHARMA, N. K.; BISHT, K. S.; PARMAR, V. S. Lignans and neolignans from *Piper schmidtii*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 2, p. 445-448, 1993.

UMEZAWA, T. Diversity in lignan biosynthesis. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, n. 3, p. 371–390, 2003.

VÁCLAVÍK, J.; ŠOT, P.; VILHANOVÁ, B.; PECHÁČEK, J.; KUZMA, M.; KAČER, P. Practical Aspects and Mechanism of Asymmetric Hydrogenation with Chiral Half-Sandwich Complexes. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6804-6828, 2013.

VAN EMDEN, H. F. **Pest Control**. 2nd ed. Edward Arnold Publication: London and New York. 1989

VARVOGLIS, A. Chemical transformations induced by hypervalent iodine reagents. **Tetrahedron**, v. 53, n. 4, p. 1179–1255, 1997.

VERZA, M.; ARAKAWA, N. S.; LOPES, N. P.; KATO, M. J.; PUPO, M. T.; SAID, S.; CARVALHO, I. Biotransformation of a tetrahydrofuran lignan by the endophytic fungus *Phomopsis* sp. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 1, p. 195-200, 2009.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VON NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HÄBICH, D. Antibacterial natural products in medicinal chemistry-exodus or revival?. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 31, p. 5072-5129, 2006.

WANKE, S.; JARAMILLO, M. A.; BORSCH, T.; SAMAIN, M. S.; QUANDT, D.; NEINHUIS, C. Evolution of Piperales—matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, n. 2, p. 477–497, 2007.

WEI, A.; ZHOU, D. N.; RUAN, J. L.; CAI, Y. L.; XIONG, C. M.; WU, G. H.; LIU, H. B. Study on the contents of aristololactams in *Piper wallichii* and their renal cytotoxicities. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 19, n. 3, p. 349-354, 2011.

WEI, K.; LI, W.; KOIKE, K.; PEI, Y.; CHEN, Y.; NIKAIDO, T. New Amide Alkaloids from the Roots of *Piper nigrum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 6, p. 1005-1009, 2004.

WHEELER, D. A.; ISMAN, M. B.; SANCHEZ-VINDAS, P. E.; ARNASON, J. T. Screening of Costa Rica *Trichilia* species for biological activity against the larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 4, p. 347, 2001.

WILLIAMS, C.; ESPINOSA, O. A.; MONTENEGRO, H.; CUBILLA, L.; CAPSON, T. L.; ORTEGA-BARRÍA, E.; ROMERO, L. I. Hydrosoluble formazan XTT: its application to natural products drug discovery for *Leishmania*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 55, n. 3, p. 813- 816, 2003.

WU, J.; LU, X.; TANG, W.; KONG, H.; ZHOU, S.; XU, G. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry in the analysis of volatile oil of traditional Chinese medicines. **Journal of Chromatography A**, v. 1034, n. 1-2, p. 199-205, 2004.

WU, Q. L.; WANG, S. P.; TU, G. Z.; FENG, Y. X.; YANG, J. S. Alkaloids from *Piper puberullum*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 4, p. 727-730, 1997.

WU, T.; LEU, Y.; CHAN, Y. Constituents of the leaves of *Aristolochia kaempferi*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, n.10, p.1624-1626, 1998.

ZHANG, H. J.; TAMEZ, P. A.; HOANG, V. D.; TAN, G. T.; HUNG, N. V.; XUAN, L. T.; HOUNG, L. M.; CUONG, N. M.; THAO, D. T.; SOEJARTO, D. D.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M. Antimalarial Compounds from *Rhaphidophora decursiva*. **Journal of natural products**, v. 64, n. 6, p. 772-777, 2001.

ZHANG, K.; NI, W.; CHEN, C.; LIU, Y. Chemical Constituents of *Piper mullesua*. **Acta Botanica Yunnanica**, v. 20, n. 3, p. 374-376, 1998.

ZHANG, K.; CHEN, C.; CHEN, D. Chemical constituents of *Piper polysyphorum*. **Acta Botanica Yunnanica**, v. 19, n. 2, p. 211-212, 1997.

ZHANG, K.; WEI, N.; CHEN, C.; Chemical constituents of *Piper boehmeriaefolium* var. *Tonkinense*. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 11, n. 1, p. 44-47, 1999.

ZHANG, M.; LIU, K. X.; CAO, Y.; XIE, X.; XU, N. Isolation and identification of chemical constituents of seed of *Myristica argentea* warb. **Shenyang Yaoke Daxue Xuebao**, v. 28, n. 4, p. 263-268, 2011.

ZHANG, N.; MA, Q.; HU, J.; ZHOU, J.; ZHAO, Y. Chemical constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. root. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 23, n. 2, p. 273-274, 2011.

ZHANG, S.; LIU, X.; ZHANG, L.; WAN, D. Studies on the Chemical Constituents of Haifengteng. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 4, n. 3, p. 1-4, 1992.

ZHAO, G.; WANG, X.; GAO, H. Isolation and identification of chemical constituents from processed *Myristica fragrans* Houtt. **Zhongguo Xiandai Zhongyao**, v. 13, n. 11, p. 32-33, 2011.

ZHAO, X. S.; HUANG, L.-B.; YANG, H.-J.; OU, S.-L.; FENG, J.-D. Simultaneous determination of eugenol, isoeugenol, myristicin and elemicin in *Myristica fragrans* Houtt. by GC. **Yaowu Fenxi Zazhi**, v. 32, n. 9, p. 1569-1573, 2012.

ZHAO, Y.; RUAN, J.; CAI, Y. Study on three aristololotams from *Piper wallichii*. **Journal of Chinese Medicinal materials**, v. 28, n. 3, p. 191-3, 2005.

ZHENG, G.Q.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Myristicin: A Potential Cancer Chemopreventive Agent from Parsley Leaf Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 107-110, 1992.

ZHOU, L.; YANG, J.; TU, G. Study on chemical components of *Piper hancei*. **Zhongguo Yaoxue Zazhi**, v. 40, n. 3, p. 184-185, 2005.

ZHU, S.; LU, X.; DONG, L.; XING, J.; SU, X.; KONG, H.; XU, G.; WU, C. Quantitative determination of compounds in tobacco essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1086, n.1-2, p. 107-114, 2005.

ZINI, C. A. Cromatografia Gasosa Bidimensional. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 1, p. 31-49, 2009.

ANEXO 1 - RESULTADOS

Tabela 18. Constituintes, índice de retenção e concentrações relativas por CG×CG-EM e CG-EM, para partes aéreas de *Manekia obtusa*, folhas e galhos de *Piper cubataonum*.

Constituintes		IR lit ^a	Partes aéreas de <i>M. obtusa</i>		Folhas de <i>P. cubataonum</i>		Galhos de <i>P. cubataonum</i>	
			CG×CG-EM	CG-EM	CG×CG-EM	CG-EM	CG×CG-EM	CG-EM
			% (IR calc)	% (IR calc)	% (IR calc)	% (IR calc)	% (IR calc)	% (IR calc)
	Hidrocarbonetos Monoterpênicos		0,14	0,00	1,32	0,03	0,30	0,04
1	α-pineno	932	0,06 (938)	-	0,32 (938)	-	0,03 (938)	-
2	canfeno	946	-	-	0,03 (953)	-	0,01 (953)	-
3	β-pineno	974	-	-	0,13 (981)	-	0,02 (981)	-
4	β-mirceno	988	-	-	0,03 (994)	-	0,02 (994)	0,01 (982)
5	α-felandreno	1002	-	-	0,01 (1008)	-	0,01 (1008)	-
6	δ-3-careno	1008	-	-	0,26 (1013)	-	0,01 (1013)	-
7	p-cimeno	1020	-	-	-	-	0,02 (1028)	-
8	limoneno	1024	0,08 (1031)	-	0,45 (1031)	0,03 (1028)	0,04 (1031)	0,01 (1028)
9	(Z)-β-ocimeno	1032	-	-	0,02 (1038)	-	0,06 (1038)	0,01 (1035)
10	(E)-β-ocimeno	1044			0,03 (1049)	-	0,04 (1049)	0,01 (1045)
11	γ-terpineno	1054	-	-	0,02 (1062)	-	0,03 (1062)	-
12	terpinoleno	1086	-	-	0,02 (1092)	-	0,01 (1092)	-
	Monoterpenos Oxigenados		0,42	0,00	0,27	0,00	1,03	0,08

13	óxido de <i>cis</i> -linalol (furanóide)	1067	0,02 (1074)	-	-	-	-	-
14	óxido de <i>trans</i> -linalol (furanóide)	1084	0,02 (1092)	-	-	-	-	-
15	linalol	1095	-	-	0,14 (1102)	-	0,19 (1102)	0,03 (1095)
16	iso-3-tujanol	1134	0,04 (1129)	-	-	-	-	-
17	cânfora	1141	-	-	-	-	0,01 (1150)	-
18	borneol	1165	0,11 (1171)	-	-	-	-	-
19	óxido de <i>cis</i> -linalol (piranóide)	1170	0,05 (1174)	-	-	-	-	-
20	óxido de <i>trans</i> -linalol (piranóide)	1173	0,04 (1179)	-	-	-	-	-
21	α -terpineol	1186	0,14 (1198)	-	-	-	0,04 (1198)	-
22	acetato de bornila	1287	-	-	0,13 (1291)	-	0,79 (1291)	0,05 (1290)
	Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos		7,15	16,00	36,06	6,52	26,01	3,43
23	δ -elemeno	1335	-	-	0,24 (1340)	-	0,06 (1343)	-
24	α -cubebeno	1345	-	-	0,54 (1355)	-	0,13 (1355)	-
25	longiciclono	1371	-	-	1,22 (1371)	0,16 (1370)	1,60 (1371)	0,28 (1370)
26	α -copaeno	1374	-	-	2,18 (1381)	-	1,41 (1381)	-
27	β -elemeno	1389	1,95 (1398)	5,69 (1390)	2,61 (1388)	1,07 (1396)	1,08 (1398)	0,15 (1396)
28	(<i>Z</i>)-cariofileno	1408	-	-	0,64 (1414)	-	0,05 (1412)	-
29	(<i>E</i>)-cariofileno	1417	0,53 (1426)	-	3,13 (1426)	0,92 (1426)	2,02 (1426)	0,17 (1426)
30	(<i>E</i>)- α -ionone	1428	0,14 (1431)	-	0,02 (1431)	-	-	-

31	β -gurjuneno	1431	-	-	0,11 (1395)	-	0,10 (1395)	-
32	<i>trans</i> - α -bergamoteno	1432	-	-	2,34 (1438)	-	3,31 (1438)	0,47 (1441)
33	γ -elemeno	1434	-	-	0,66 (1438)	-	0,36 (1438)	-
34	aromadendreno	1439	0,46 (1445)	0,71 (1435)	-	-	-	-
35	α -humuleno	1452	0,16 (1457)	-	1,97 (1457)	0,10 (1461)	-	-
36	propanoato de nerila	1452	0,11 (1464)	-	-	-	-	-
37	geranil acetona	1453	0,06 (1455)	-	-	-	-	-
38	(<i>E</i>)- β -farneseno	1454	-	-	-	-	0,97 (1457)	0,08 (1461)
39	<i>allo</i> -aromadendreno	1458	-	-	0,75 (1464)	-	-	-
40	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	1464	0,12 (1464)	-	-	-	-	-
41	γ -gurjuneno	1475	0,35 (1479)	-	-	-	0,26 (1467)	-
42	α -curcumeno	1479	0,10 (1483)	-	-	-	-	-
43	α -amorfenno	1483	-	-	1,13 (1479)	-	0,97 (1481)	-
44	germacreno D	1484	-	-	4,66 (1486)	0,38 (1489)	5,77 (1486)	1,07 (1489)
45	(<i>E</i>)- β -ionone	1487	0,17 (1488)	-	0,03 (1488)	-	0,02 (1488)	-
46	β -selineno	1489	1,57 (1490)	4,18 (1483)	-	-	-	-
47	valenceno	1496	-	-	0,86 (1495)	-	-	-
48	α -selineno	1498	0,52 (1500)	2,23 (1491)	0,96 (1508)	-	-	-
49	α -muuroleno	1500	-	-	-	-	1,74 (1503)	0,46 (1508)
50	(<i>E,E</i>)- α -farneseno	1505	-	-	3,75 (1500)	0,59 (1505)	-	-
51	β -bisaboleno	1505	0,38 (1511)	0,57 (1507)	-	-	-	-
52	γ -cadineno	1513	0,20 (1519)	-	-	-	-	-

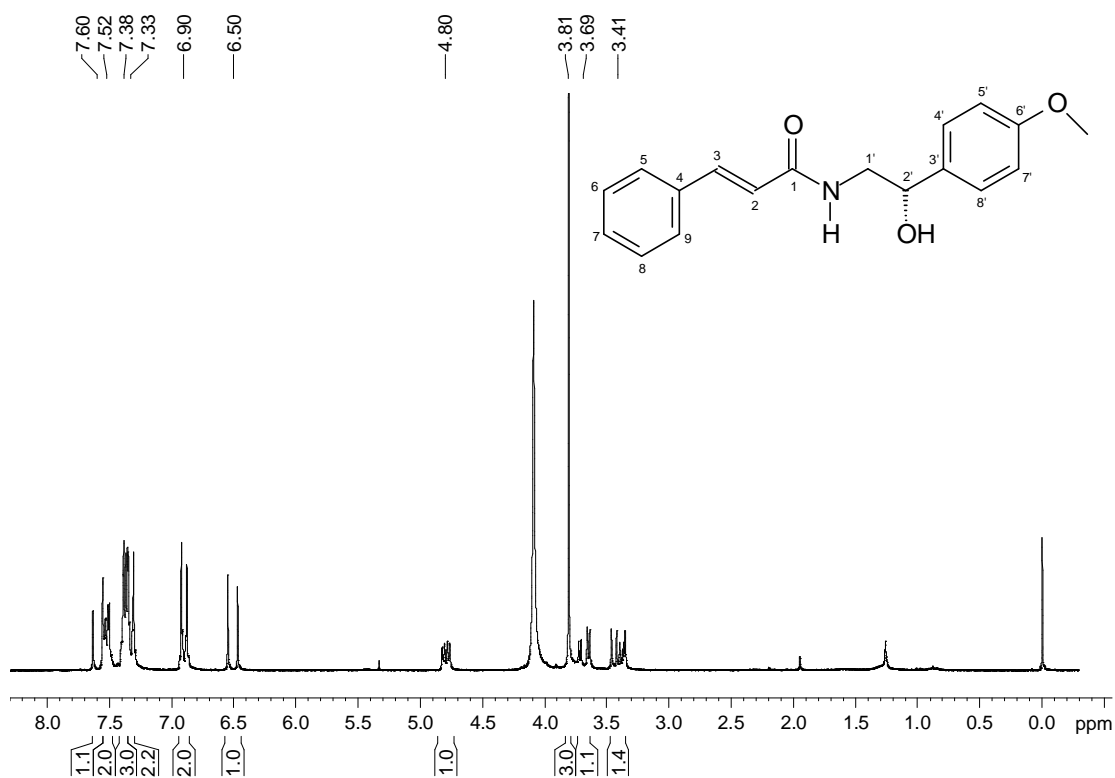
53	α -panasinseno ^b	1518	-	-	1,24 (1522)	-	0,68 (1522)	-
54	δ -cadineno	1522	0,12 (1527)	-	3,83 (1527)	3,30 (1532)	2,67 (1527)	0,75 (1532)
55	<i>trans</i> -calameneno	1521	0,13 (1527)	0,78 (1521)	0,36 (1527)	-	0,14 (1527)	-
56	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno	1533	-	-	0,46 (1538)	-	-	-
57	α -calacoreno	1544	-	1,21 (1540)	0,20 (1549)	-	0,10 (1549)	-
58	germacreno B	1559	-	-	2,17 (1565)	-	2,57 (1565)	-
59	cadaleno	1675	0,08 (1684)	0,63 (1678)	-	-	-	-
	Sesquiterpenos Oxigenados		41,39	57,06	4,67	0,18	4,68	0,03
60	<i>tert</i> -butil-hidroxi-tolueno	1514	0,61 (1514)	-	-	-	-	-
61	(<i>Z</i>)-nerolidol	1531	-	-	0,01 (1543)	-	0,01 (1543)	-
62	elemol	1548	0,11 (1554)	0,72 (1549)	-	-	0,04 (1554)	-
63	(<i>E</i>)-nerolidol	1561	8,16 (1568)	13,44 (1565)	1,34 (1568)	0,10 (1568)	0,36 (1568)	0,03 (1568)
64	palustrol	1567	0,08 (1576)	-	-	-	-	-
65	espatulenol	1577	10,24 (1586)	17,41 (1576)	1,47 (1586)	0,08 (1585)	0,51 (1586)	-
66	óxido de cariofileno	1582	2,75 (1592)	4,12 (1579)	-	-	0,26 (1592)	-
67	globulol	1590	3,30 (1592)	4,53 (1582)	-	-	-	-
68	viridiflorol	1592	0,67 (1600)	1,28 (1589)	-	-	-	-
69	cubeban-11-ol	1595	0,13 (1605)	1,80 (1591)	-	-	-	-
70	rosifoliol	1600	0,35 (1611)	1,60 (1599)	-	-	-	-
71	ledol	1602	1,22 (1614)		1,01(1600)	-	1,41 (1600)	-
72	óxido de ledeno-(II) ^c	1631	-	-	-	-	0,21 (1622)	-
73	selina-3,11-dien-6 α -ol	1642	0,14 (1654)	-	-	-	-	-

74	α -muurolol	1644	-	-	0,32 (1657)	-	1,36 (1657)	-
75	cubenol	1645	-	-	-	-	0,06 (1654)	-
76	β -eudesmol	1649	0,54 (1632)		-	-	0,21 (1662)	-
77	α -cadinol	1652	1,94 (1654)	1,47 (1645)	0,52 (1651)	-	0,23 (1654)	-
78	óxido de α -bisabolol B	1656	0,23 (1641)	-	-	-	-	-
79	selin-11-en-4 α -ol	1658	5,92 (1665)	7,33 (1653)	-	-	-	-
80	(Z)- α -santalol	1674	1,32 (1678)	0,97 (1668)	-	-	-	-
81	acetato de (Z)-nerolidila	1676	0,15 (1665)	-	-	-	-	-
82	acetato de elemol	1680	0,06 (1684)	-	-	-	-	-
83	α -bisabolol	1685	0,33 (1692)	-	-	-	0,02 (1681)	-
84	(2Z,6Z)-farnesol	1698	0,24 (1689)	-	-	-	-	-
85	sesquicineol-2-ona	1701	0,09 (1684)	-	-	-	-	-
86	cedroxide	1713	0,23 (1717)	1,18 (1715)	-	-	-	-
87	(Z)- β -santalol	1715	0,74 (1723)	-	-	-	-	-
88	(2Z,6E)-farnesol	1722	1,25 (1720)	-	-	-	-	-
89	isobiciclogermacrenal	1733	0,27 (1760)	1,21 (1746)	-	-	-	-
90	(E)- β -santalol	1738	0,76 (1731)	-	-	-	-	-
91	(2E,6E)-farnesol	1742	0,37 (1754)	-	-	-	-	-
	Diterpenos		0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
92	fitol	1942	0,36 (1950)	-	-	-	-	-
	Fenilpropanoides		2,72	6,42	41,64	89,42	43,45	89,51
93	miristicina	1517	-	-	0,23 (1527)	-	0,72 (1527)	-

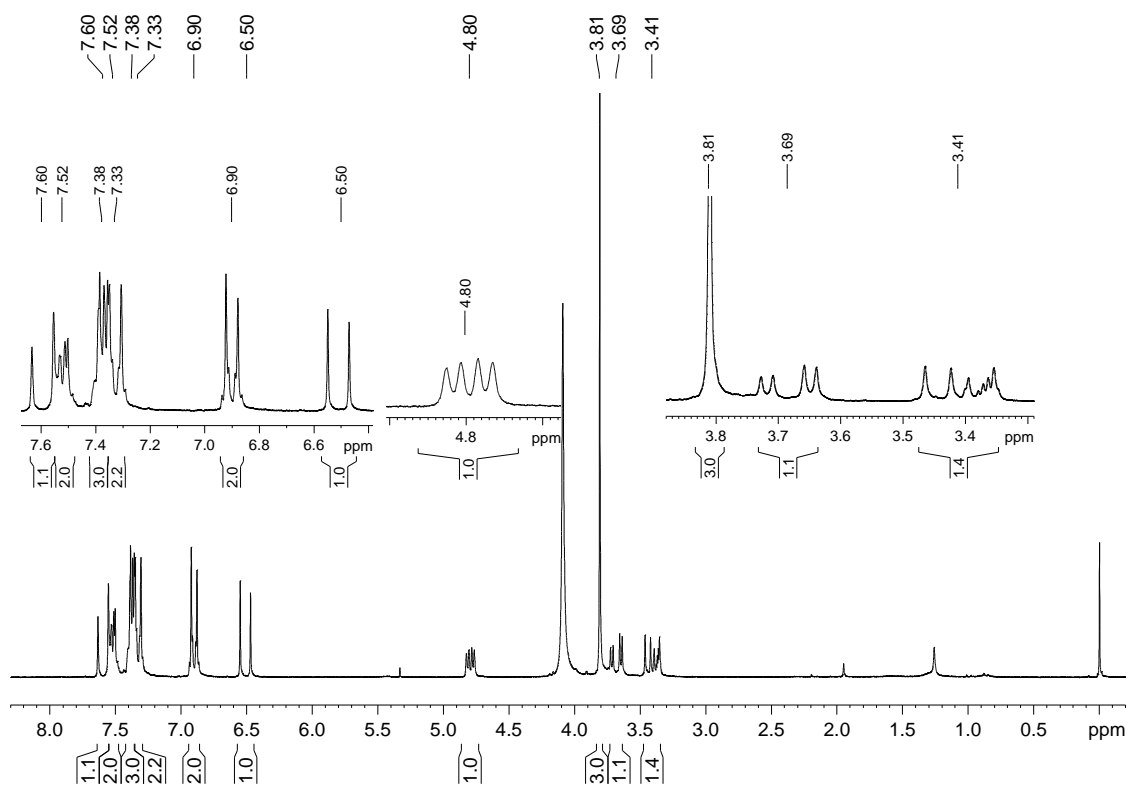
94	γ -elemicina	1555	-	-	0,51 (1562)	-	1,78 (1562)	0,24 (1563)
95	dilapiol	1620	2,72 (1632)	6,42 (1624)	25,93 (1638)	65,31(1634)	21,96 (1638)	66,04 (1636)
96	(<i>E</i>)-asarona	1675	-	-	-	-	0,10 (1659)	-
97	apiol	1677	-	-	14,97 (1695)	24,11 (1693)	18,89 (1695)	23,23 (1695)
	Outros		15,56	0,00	4,87	1,48	8,50	5,41
98	cicloexanona ^b	895	-	-	0,03 (906)	-	0,04 (906)	-
99	6-metil-5-hepten-2-ona	981	0,16 (991)	-	-	-	-	-
100	2,6-dimetil-2,6-octadieno ^c	990	-	-	0,01 (1003)	-	0,01 (1003)	-
101	2-nonanol	1097	-	-	-	-	0,02 (1107)	-
102	<i>n</i> -nonanal	1100	0,02 (1107)	-	-	-	-	-
103	(<i>Z</i>)-6-nonenol	1164	0,03 (1176)	-	-	-	-	-
104	2-undecanona	1293	-	-	0,02 (1300)	-	0,09 (1298)	-
105	<i>n</i> -tridecano	1300	-	-	0,55 (1300)	-	0,43 (1300)	0,03 (1301)
106	<i>n</i> -tetradecano	1400	0,26 (1400)	-	0,09 (1400)	-	0,21 (1400)	-
107	dodecanal	1408	0,03 (1412)	-	-	-	-	-
108	(2 <i>Z</i> ,6 <i>E</i>)-dodecadien-1-al	1445	0,07 (1455)	-	-	-	-	-
109	<i>n</i> -dodecanol	1469	0,08 (1476)	-	-	-	-	-
110	<i>n</i> -pentadecano	1500	1,82 (1498)	-	2,94 (1498)	1,42 (1503)	3,54 (1498)	5,38 (1504)
111	1-hexadeceno	1588	0,35 (1595)	-	-	-	-	-
112	ftalato de dietila	1590	-	-	0,03 (1603)	-	0,02 (1603)	-
113	dodecanoato de etila ^c	1591	0,02 (1597)	-	-	-	-	-
114	<i>n</i> -hexadecano	1600	2,39 (1603)	-	-	-	1,05 (1603)	-

115	NI aromático m/z = 238	-	-	-	0,07 (1605)	-	0,10 (1605)	-
116	tetradecanal	1611	0,03 (1616)	-	-	-	-	-
117	8-heptadeceno ^c	1677	-	-	-	-	1,32 (1678)	-
118	<i>n</i> -heptadecano	1700	0,27 (1700)	-	1,13 (1700)	0,06 (1703)	-	-
119	<i>n</i> -octadecano	1800	1,88 (1803)	-	-	-	1,67 (1803)	-
120	hexadecanal ^c	1817	1,00 (1821)	-	-	-	-	-
121	NI hidrocarboneto	-	0,10 (1841)	-	-	-	-	-
122	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona ^c	1845	3,04 (1847)	-	-	-	-	-
123	NI hidrocarboneto	-	0,60 (1847)	-	-	-	-	-
124	<i>n</i> -hexadecanol	1874	1,99 (1882)	-	-	-	-	-
125	<i>n</i> -nonadecano	1900	0,43 (1900)	-	-	-	-	-
126	hexadecanoato de metila	1921	0,76 (1928)	-	-	-	-	-
127	hexadecanoato de etila ^c	1990	0,18 (1997)	-	-	-	-	-
128	9-octadecenal ^c	1999	0,05 (1997)	-	-	-	-	-
Total			67,74	79,48	88,83	97,63	83,97	98,50

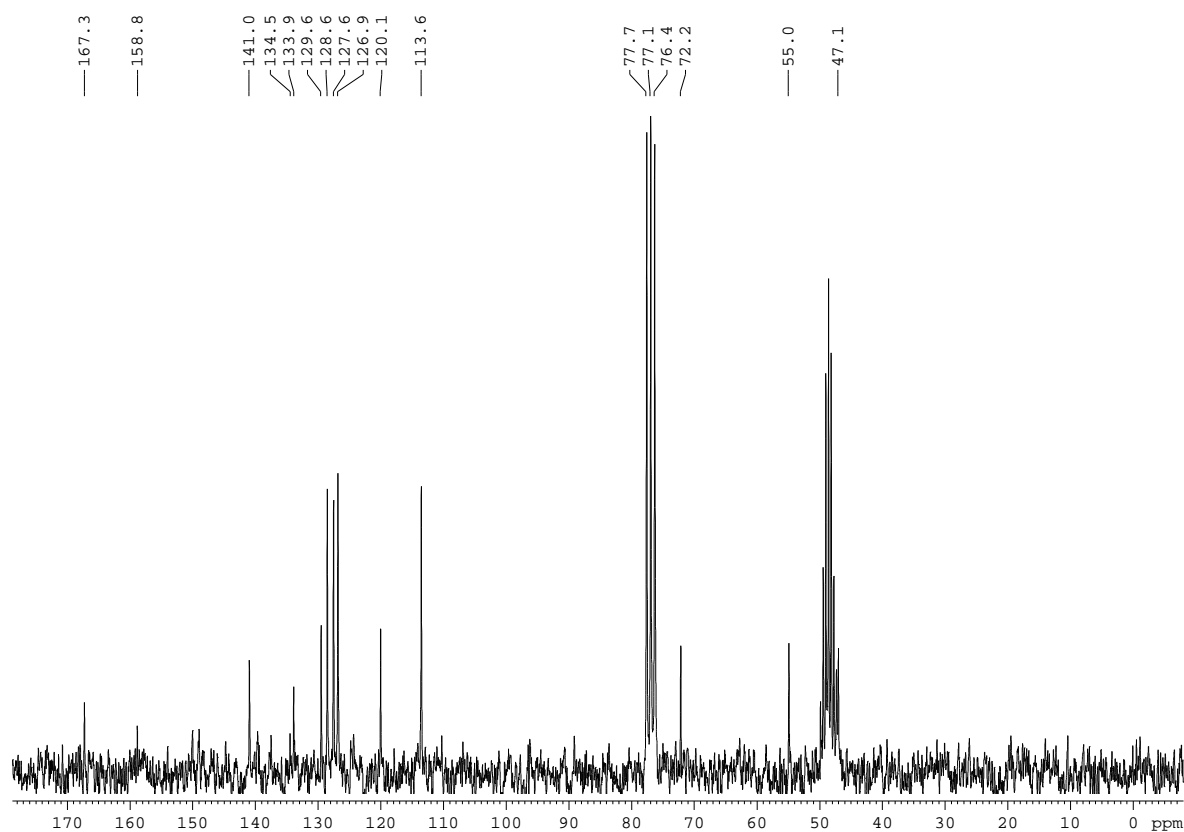
IR lit: Índice de retenção da literatura Adams (2007), ^b: Índice de retenção da base de dados Pherobase; ^c: Índice de retenção da base de dados Nist WebBook.



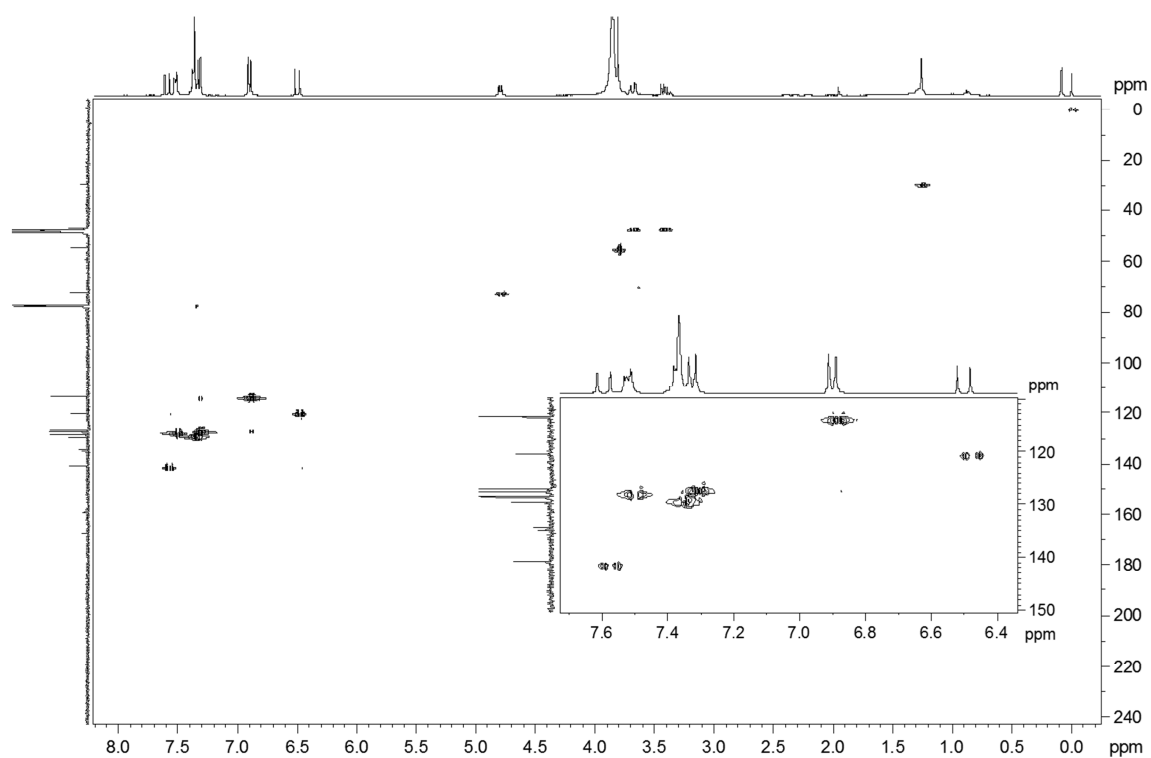
Espectro 1. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃ + gotas de MeOD) de MO 1.



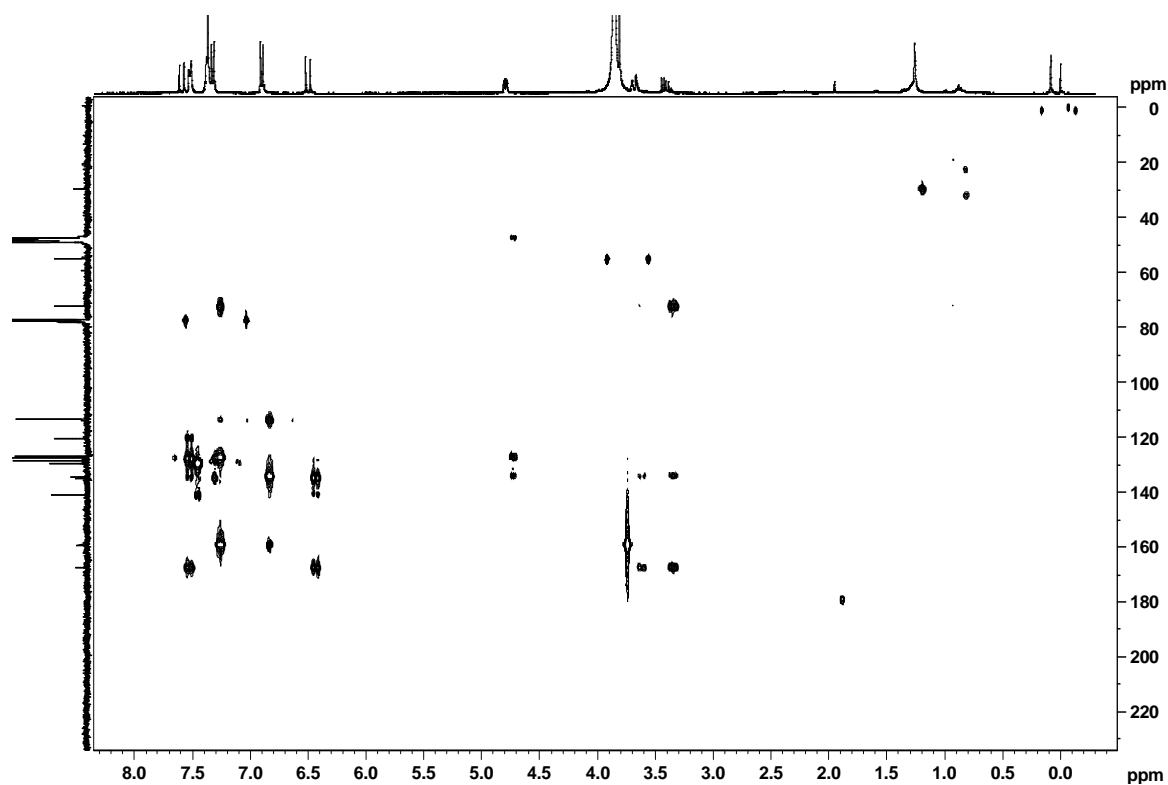
Espectro 2. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃ + gotas de MeOD) de MO 1 com ampliação.



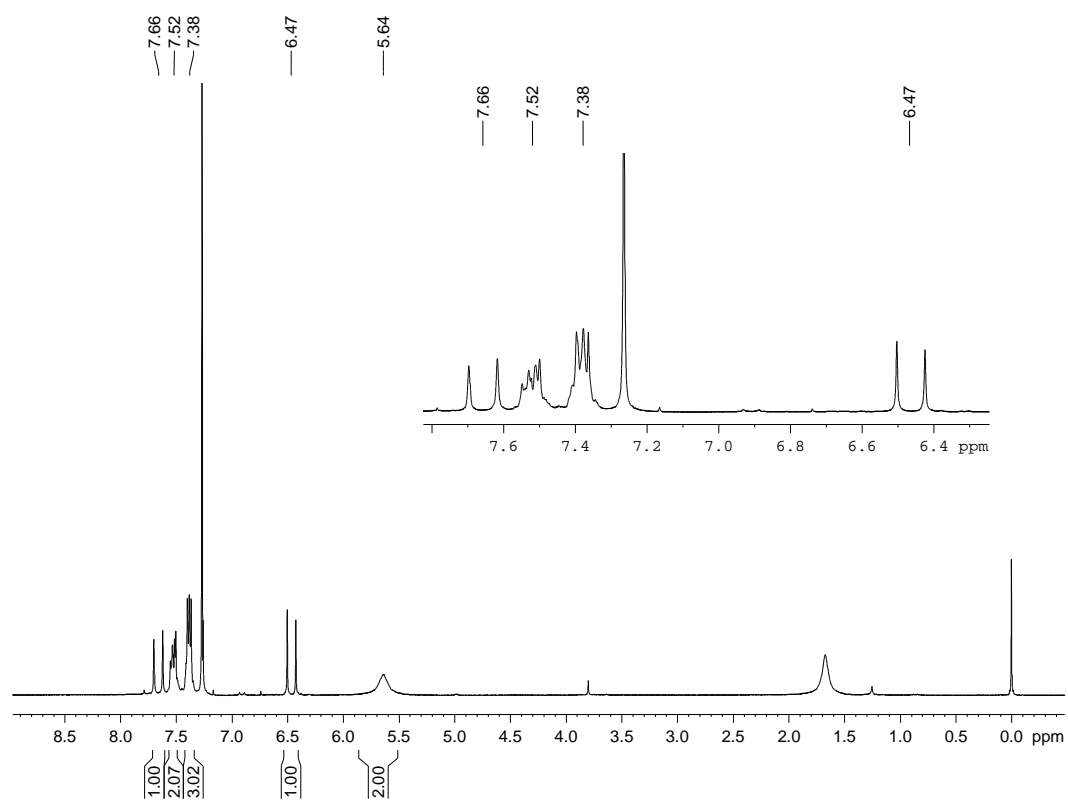
Espectro 3. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.



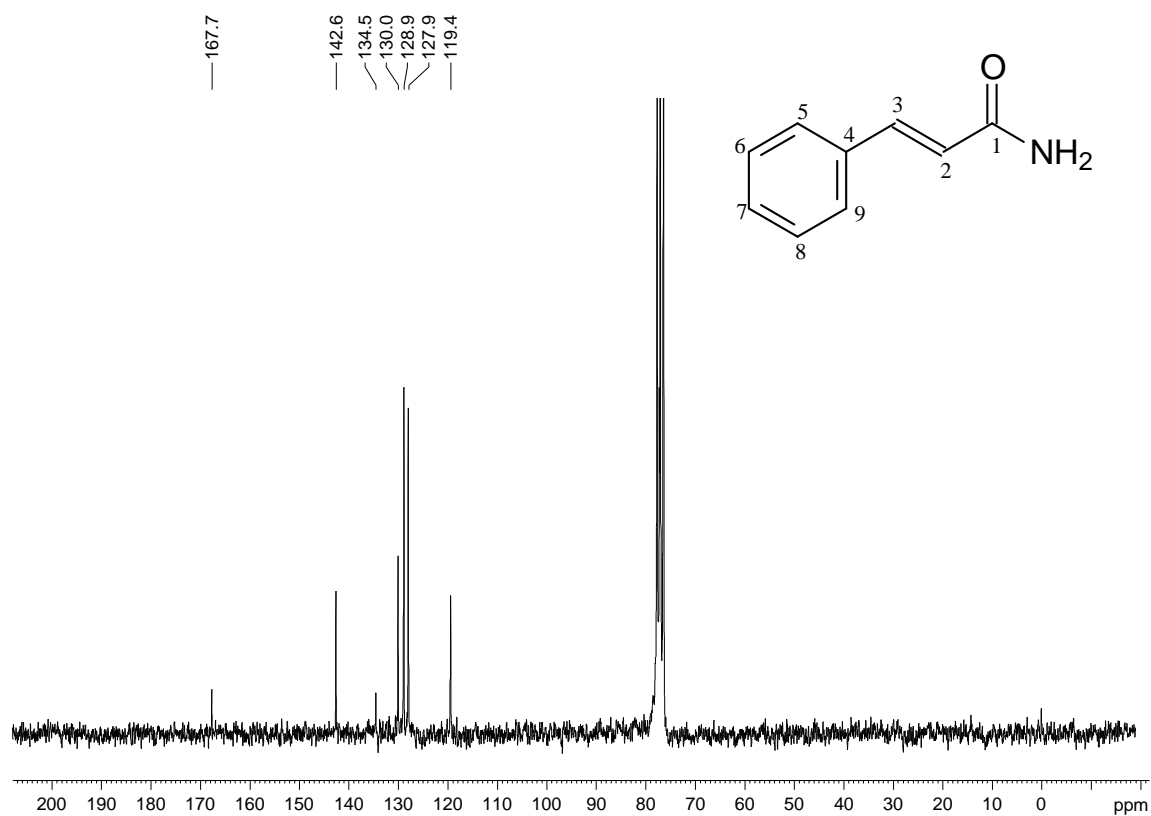
Espectro 4. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.



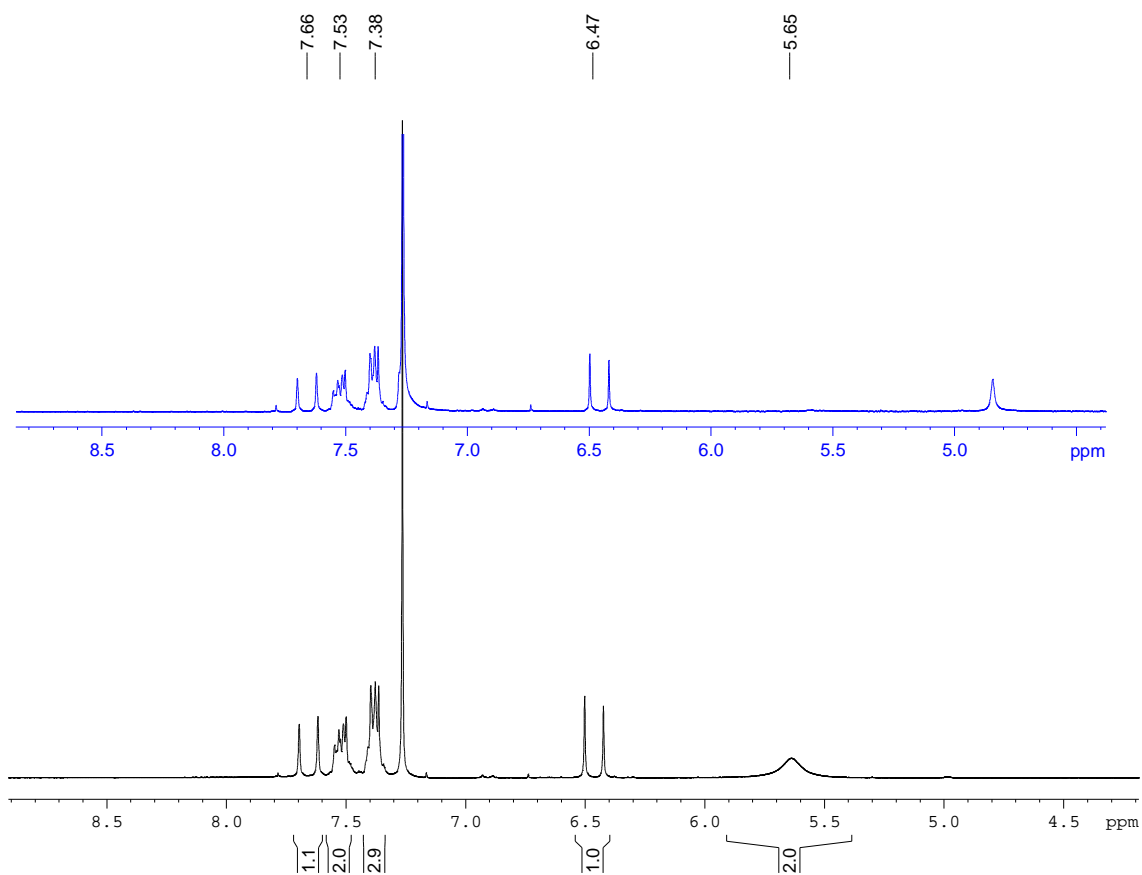
Espectro 5. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3 + gotas de MeOD) de MO 1.



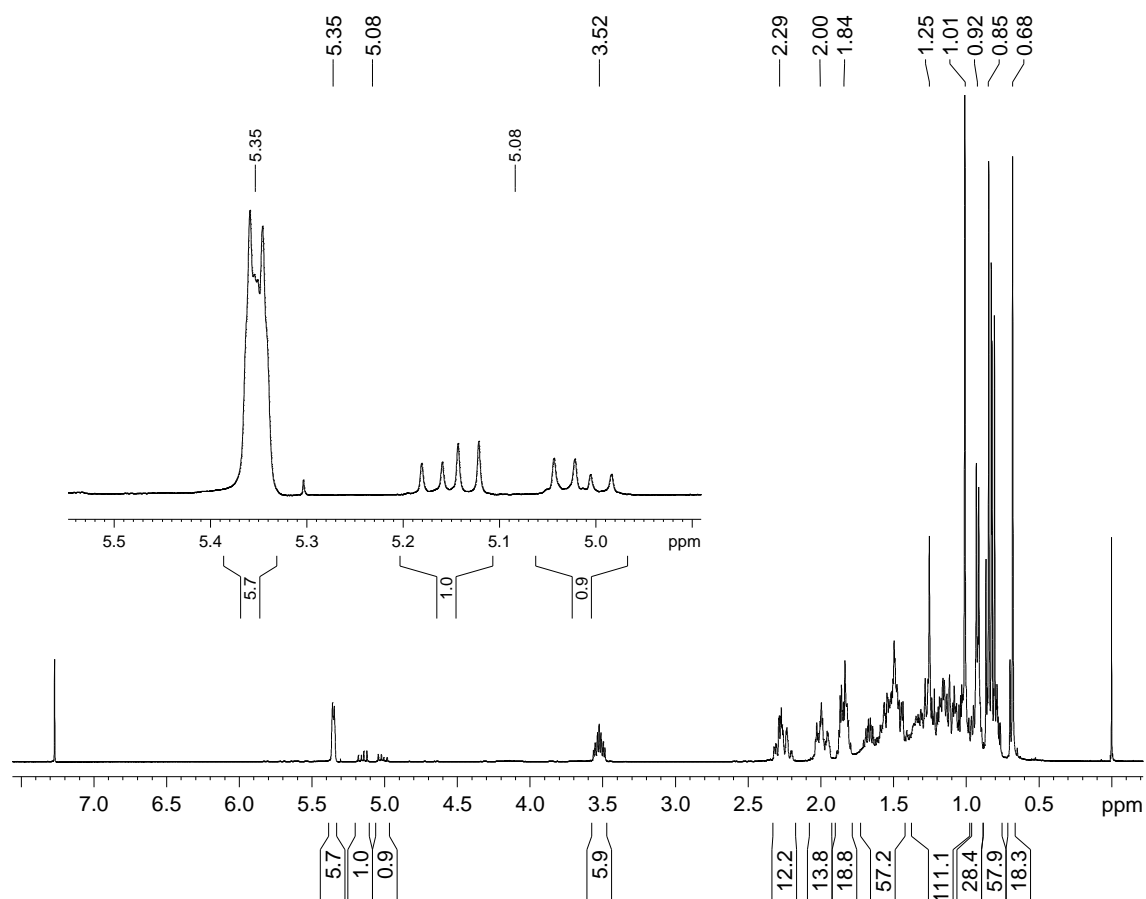
Espectro 6. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 2.



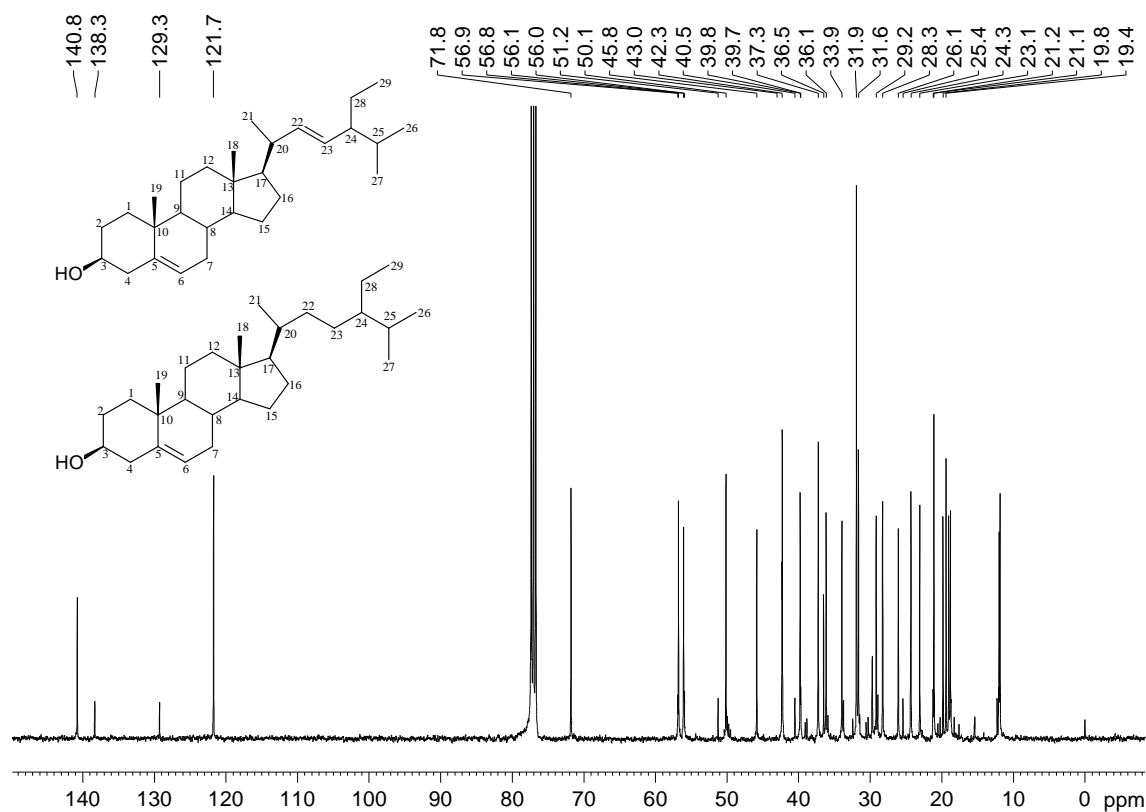
Espectro 7. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) de MO 2.



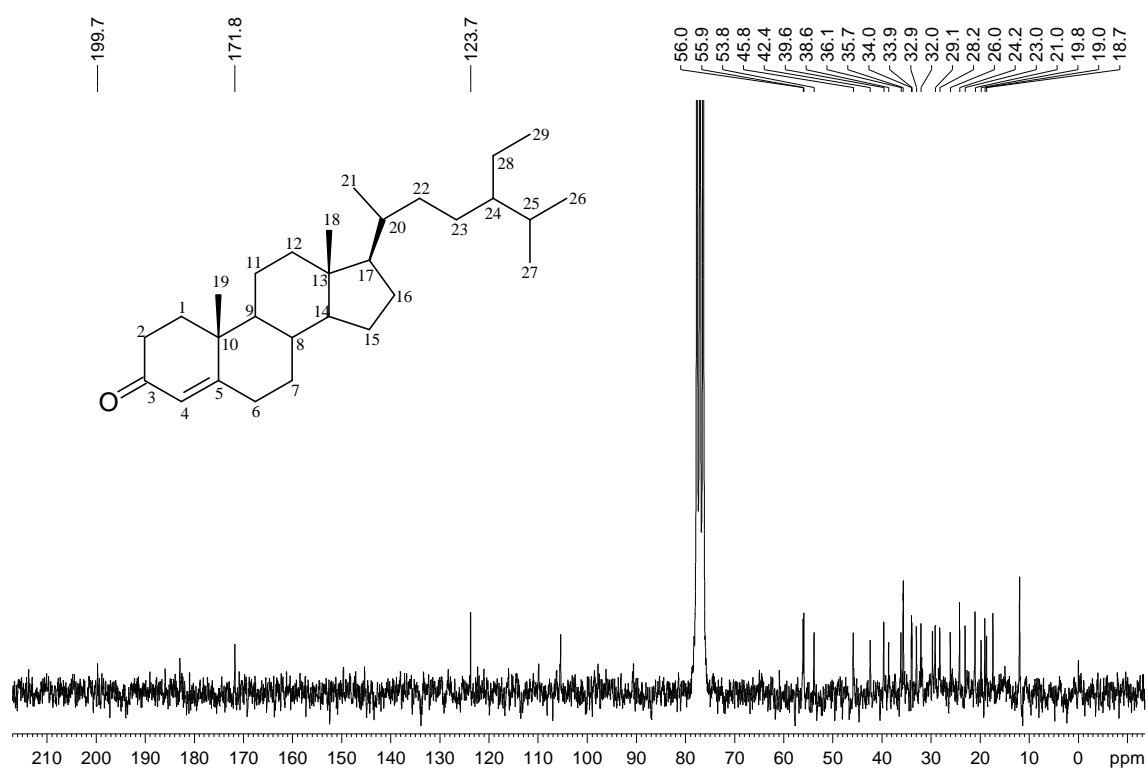
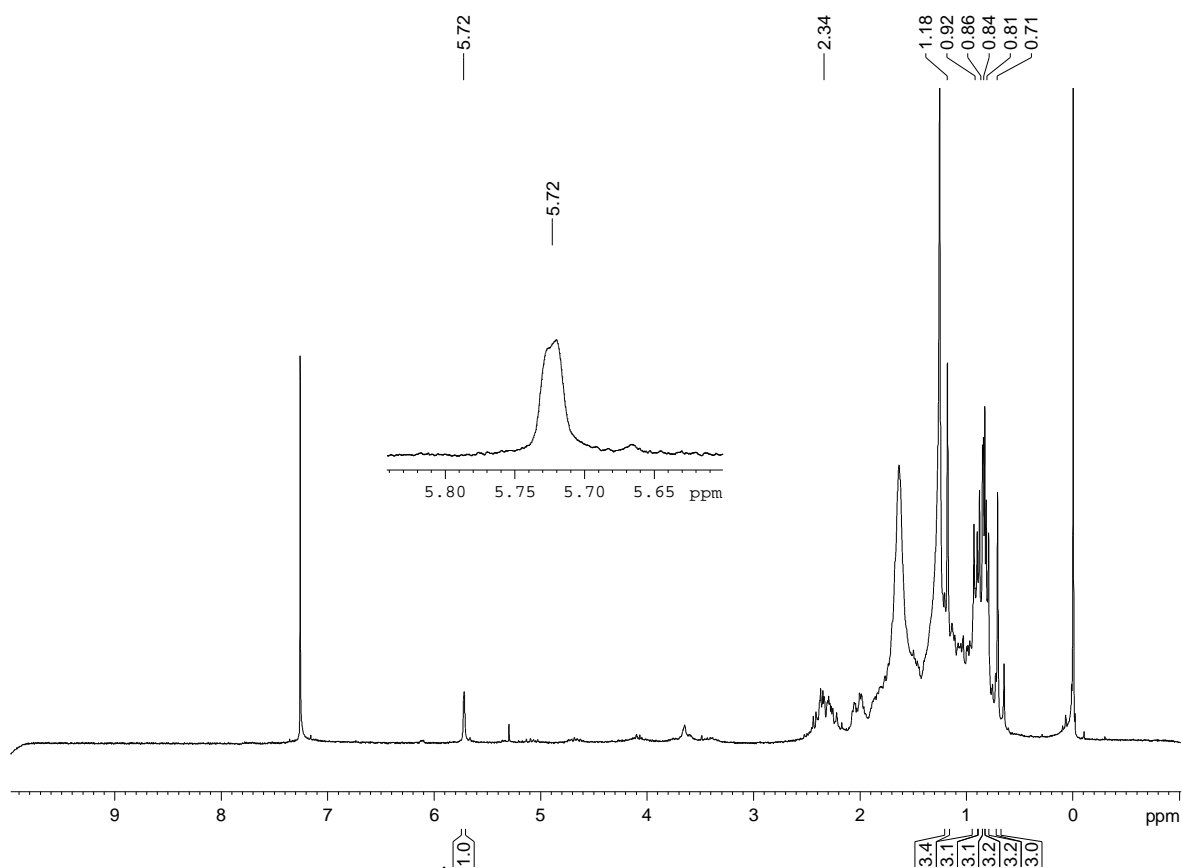
Espectro 8. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de MO 2 sem adição de D₂O (preto) e com adição de D₂O (azul).

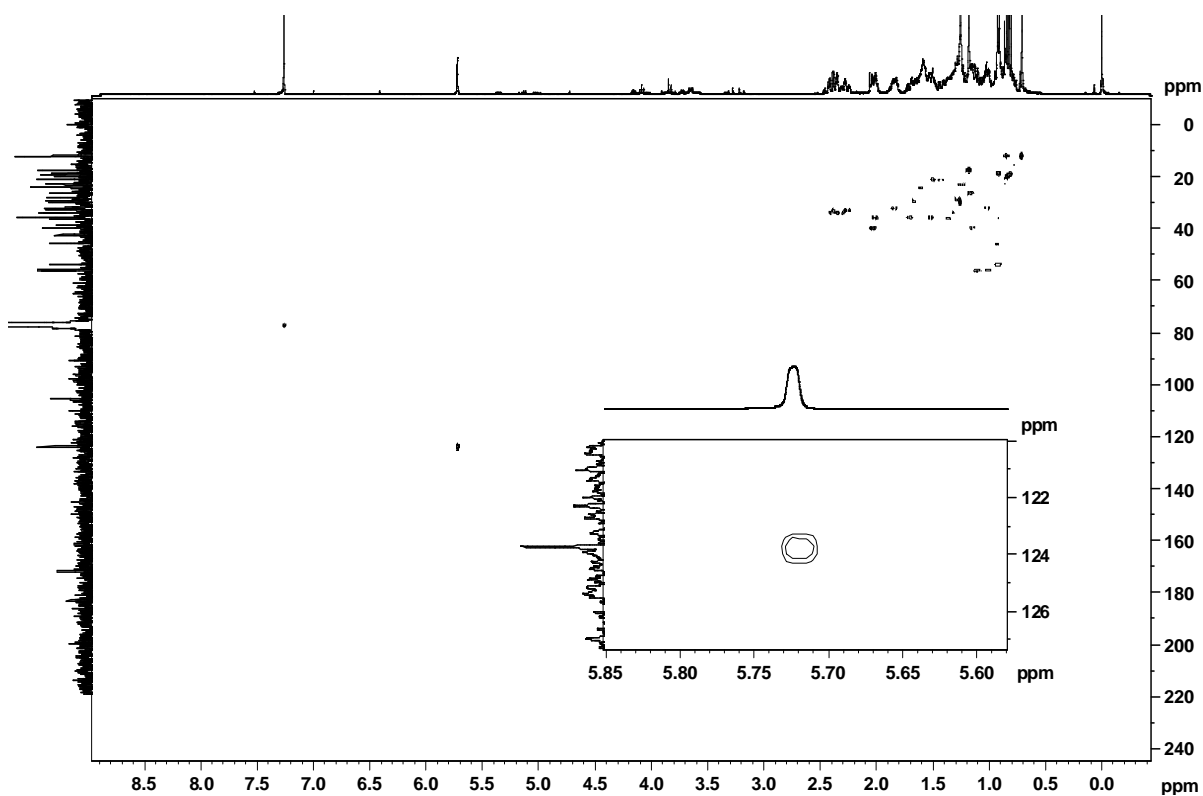


Espectro 9. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de MO 3A e MO 3B.

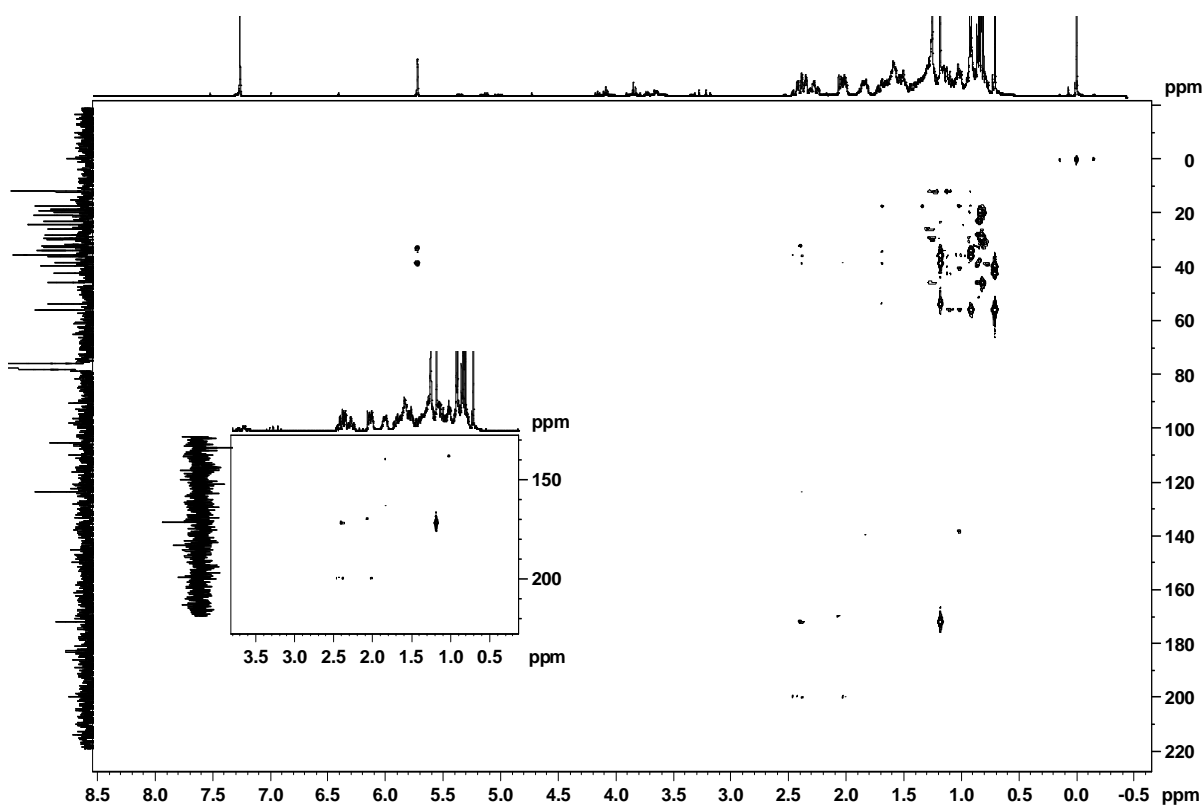


Espectro 10. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de MO 3A e MO 3B.

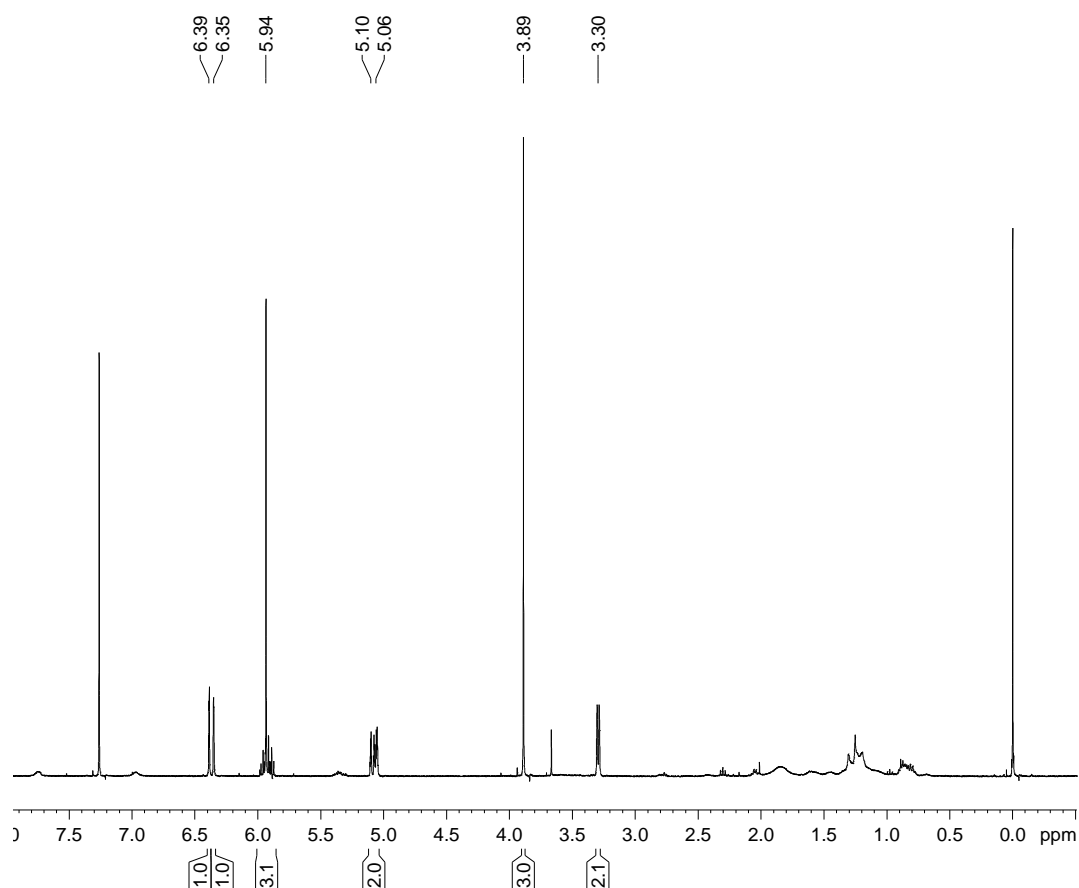




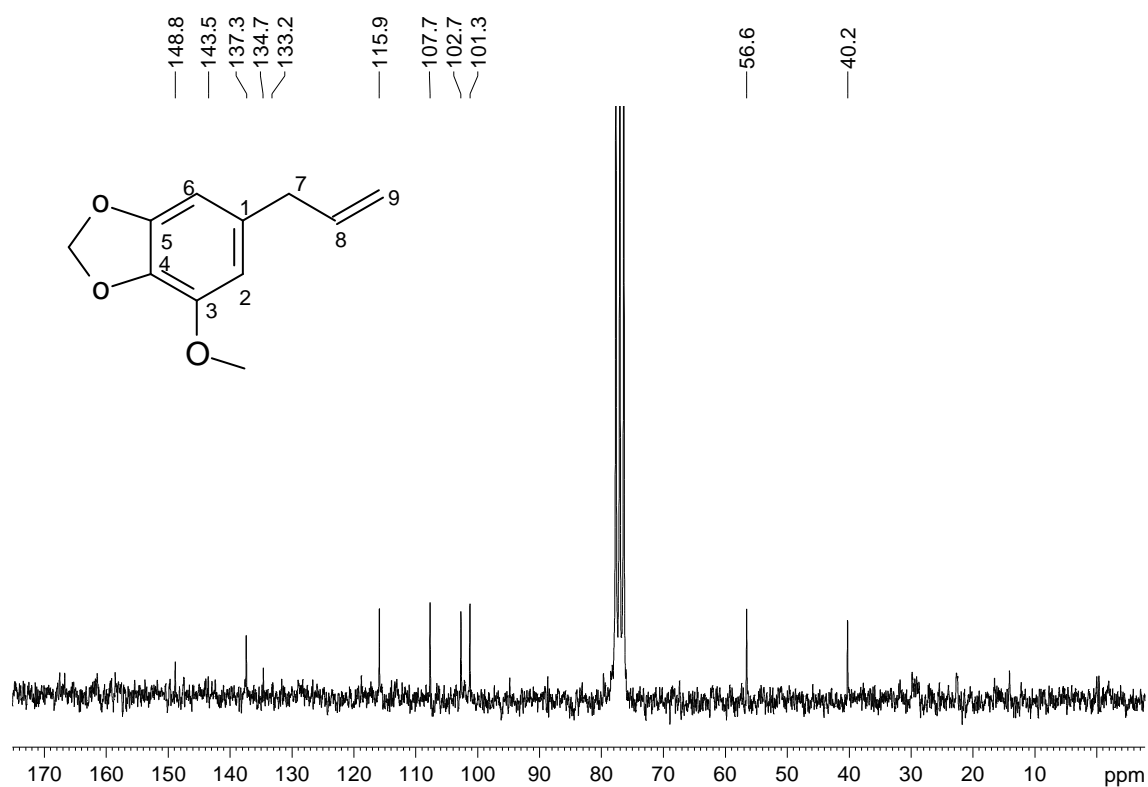
Espectro 13. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de MO 4.



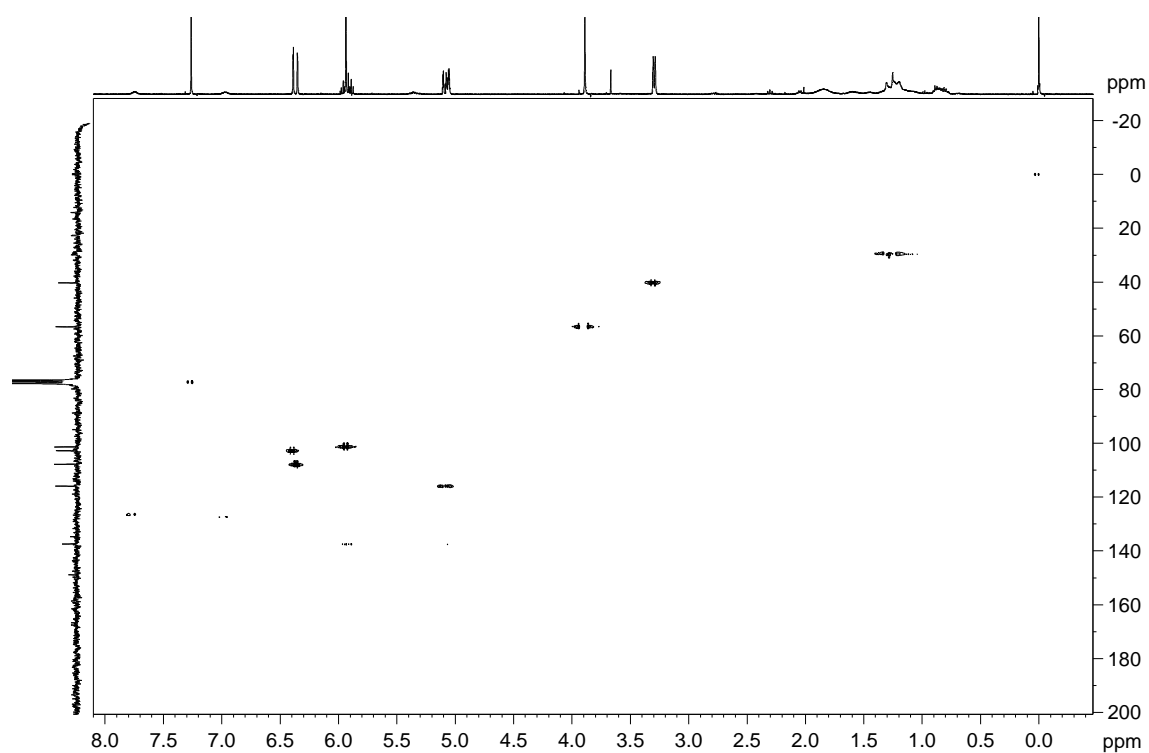
Espectro 14. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de MO 4.



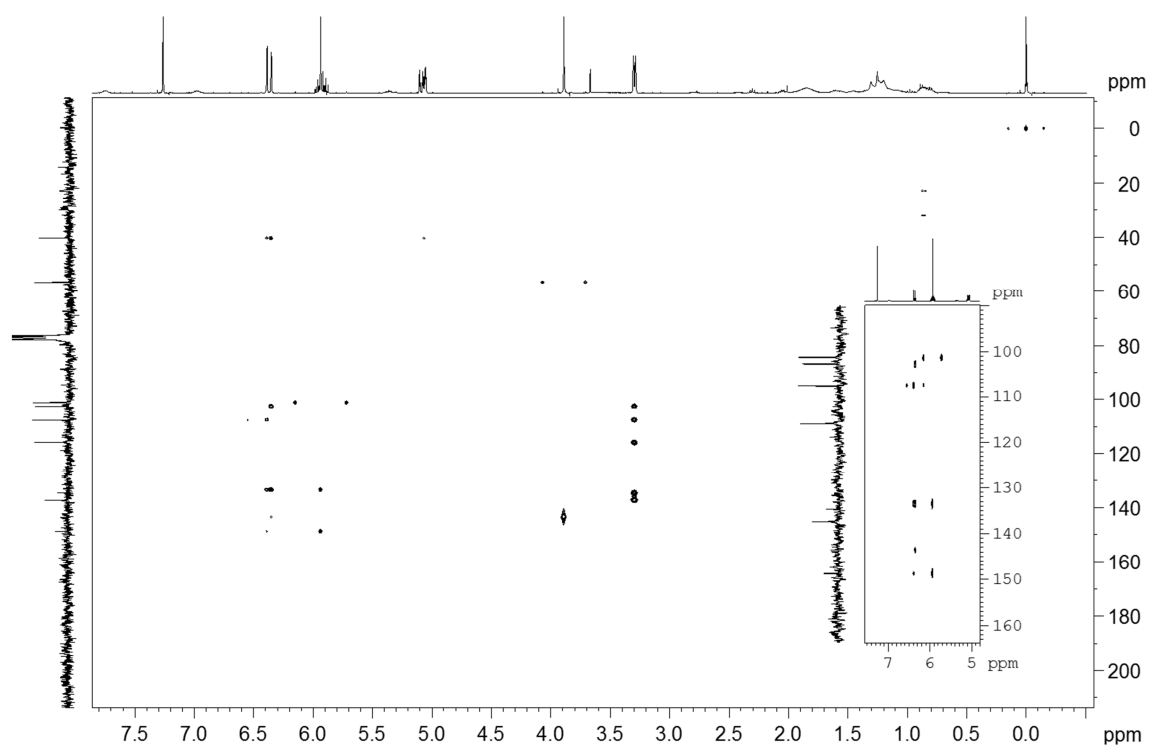
Espectro 15. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.



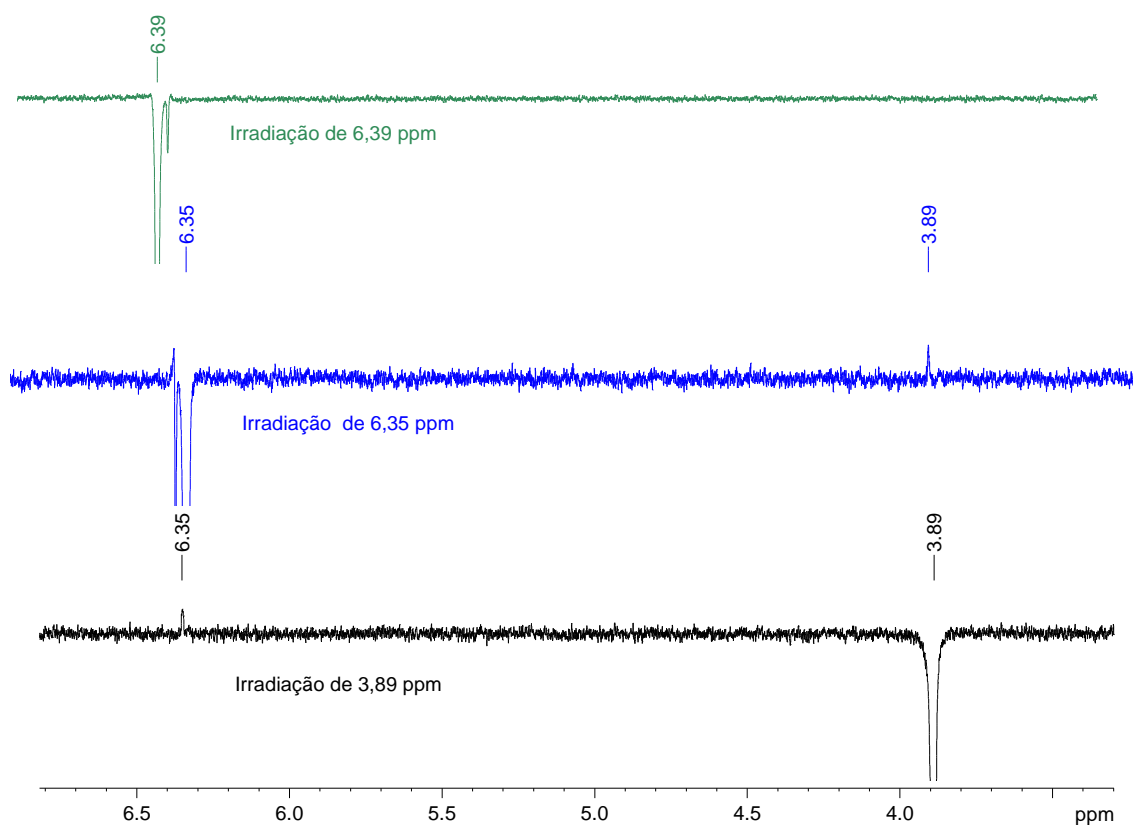
Espectro 16. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de PCR 1.



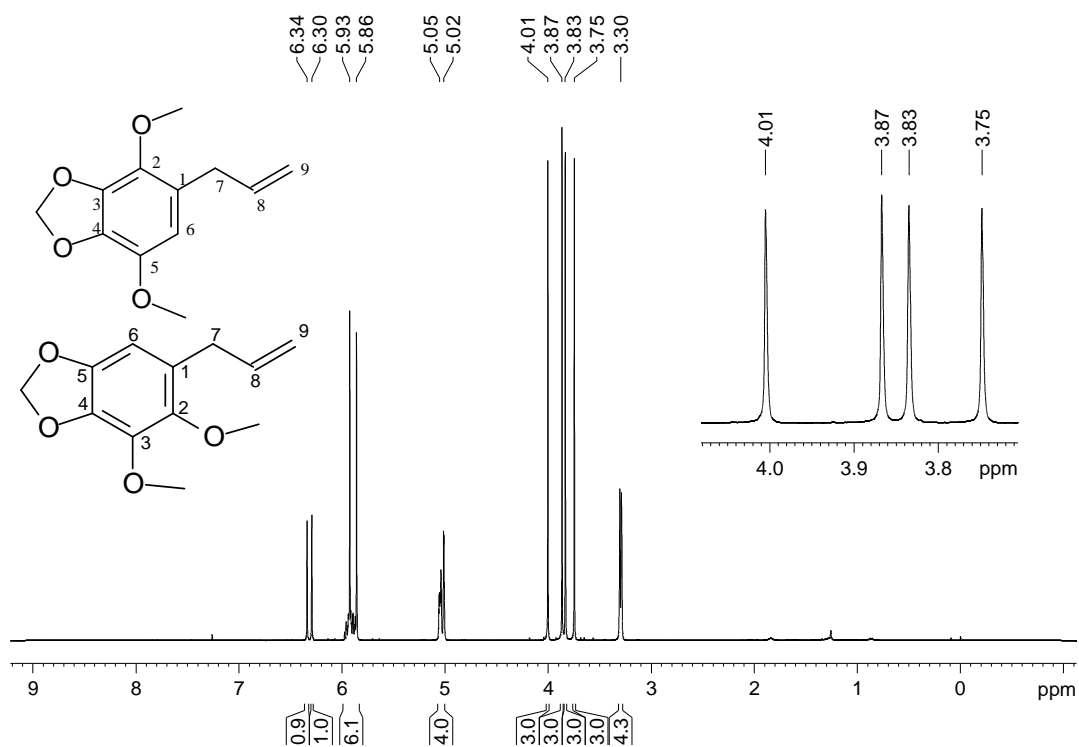
Espectro 17. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.



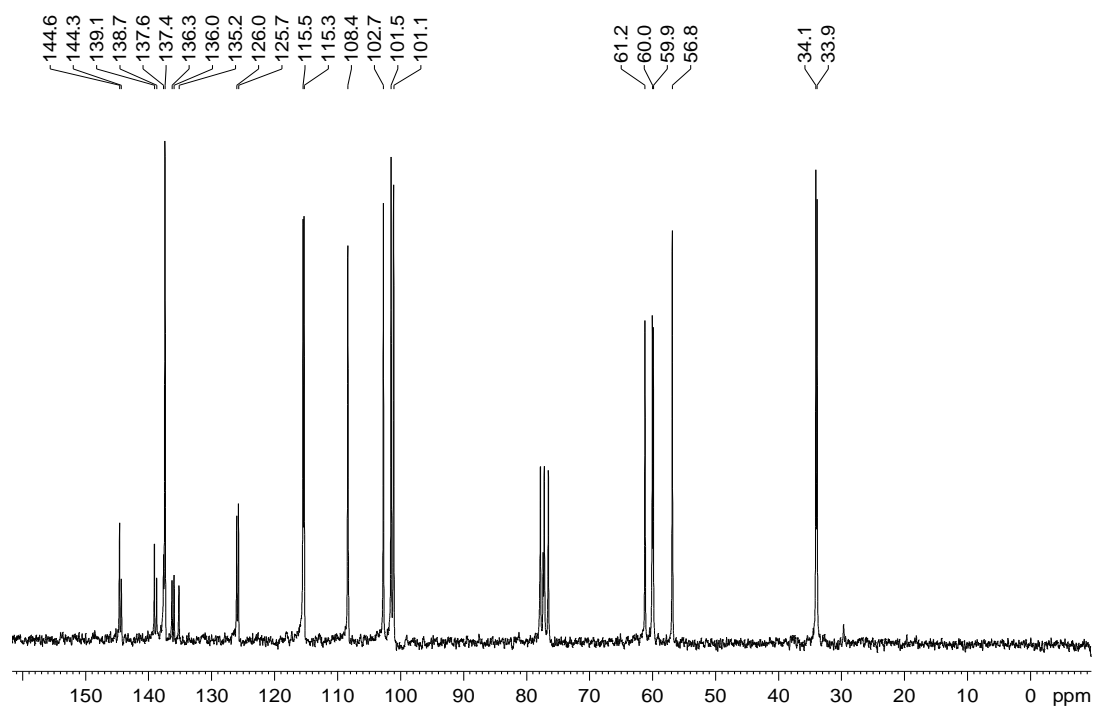
Espectro 18. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.



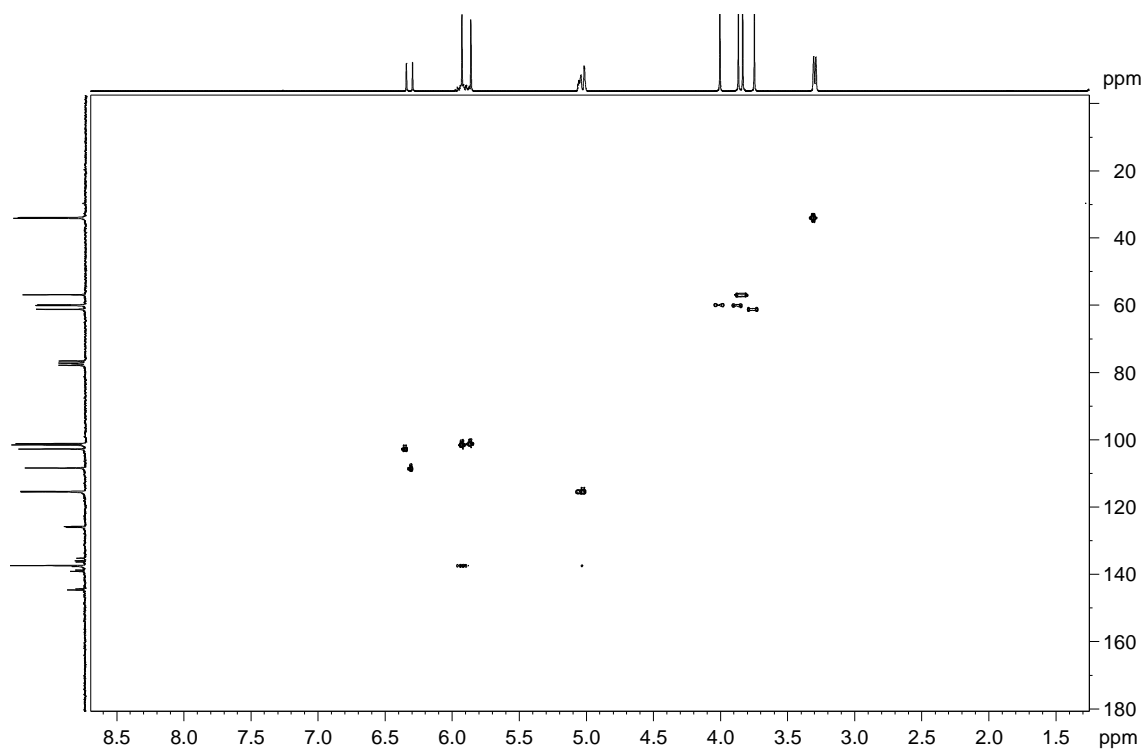
Espectro 19. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de PCR 1.



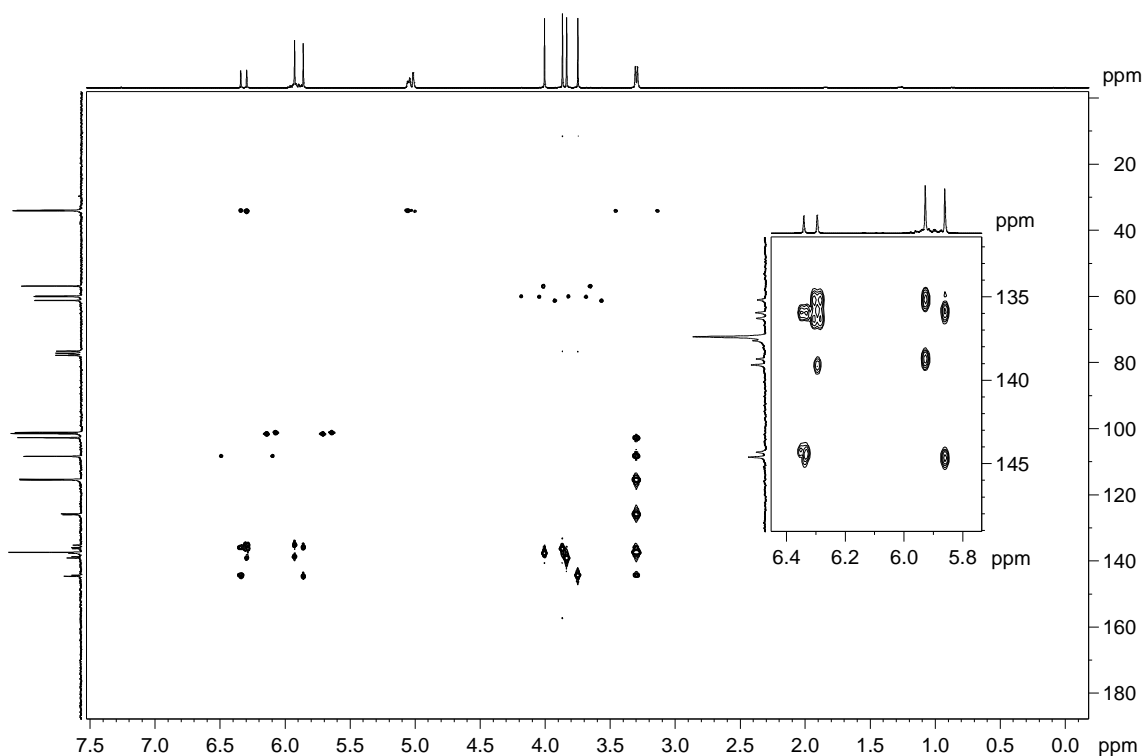
Espectro 20. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3 com ampliação.



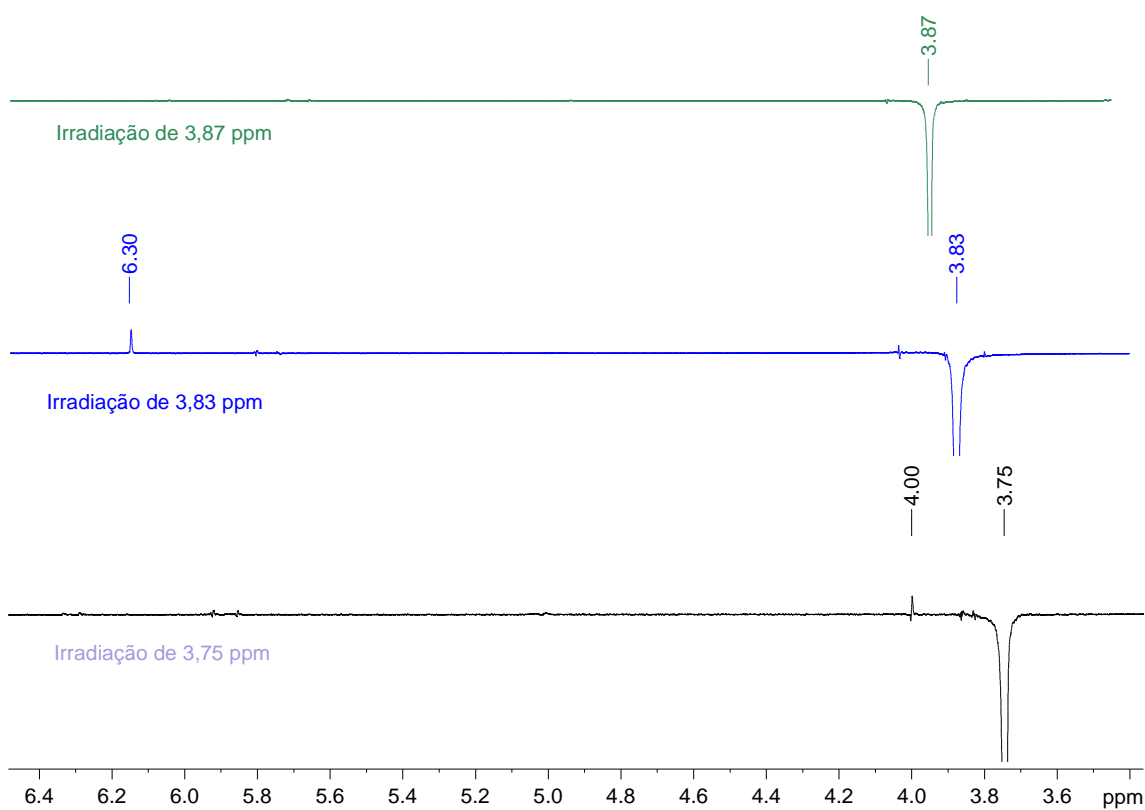
Espectro 21. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.



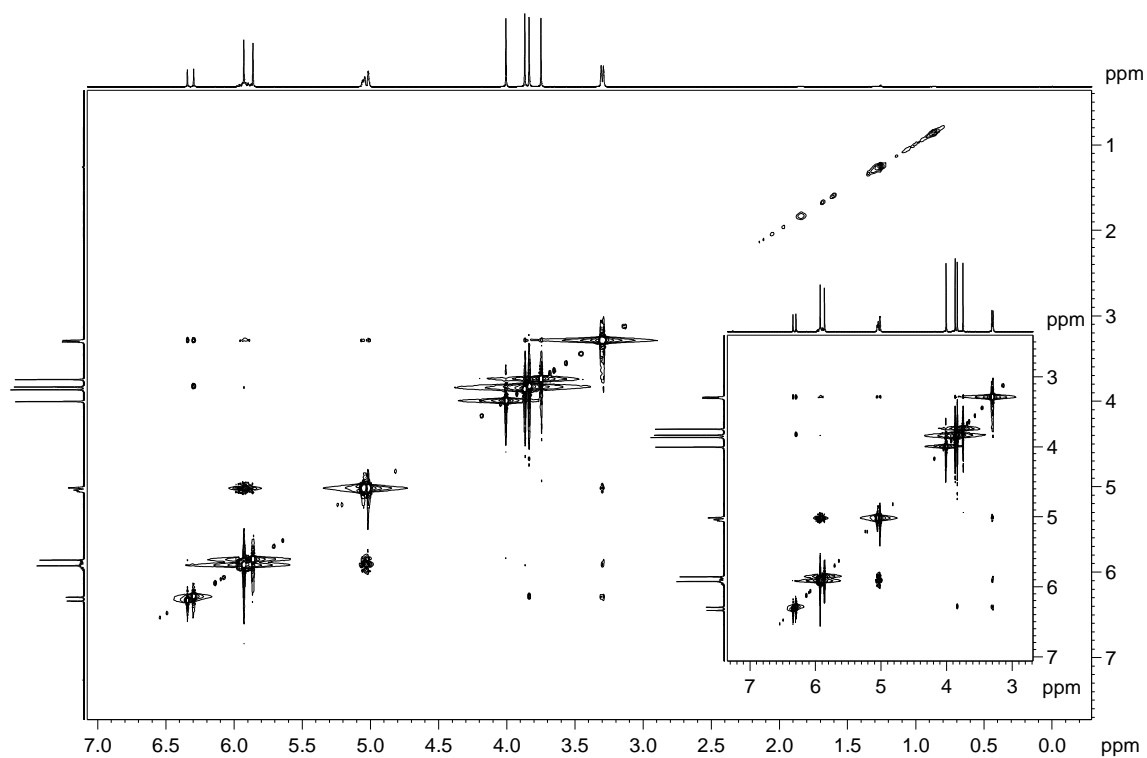
Espectro 22. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.



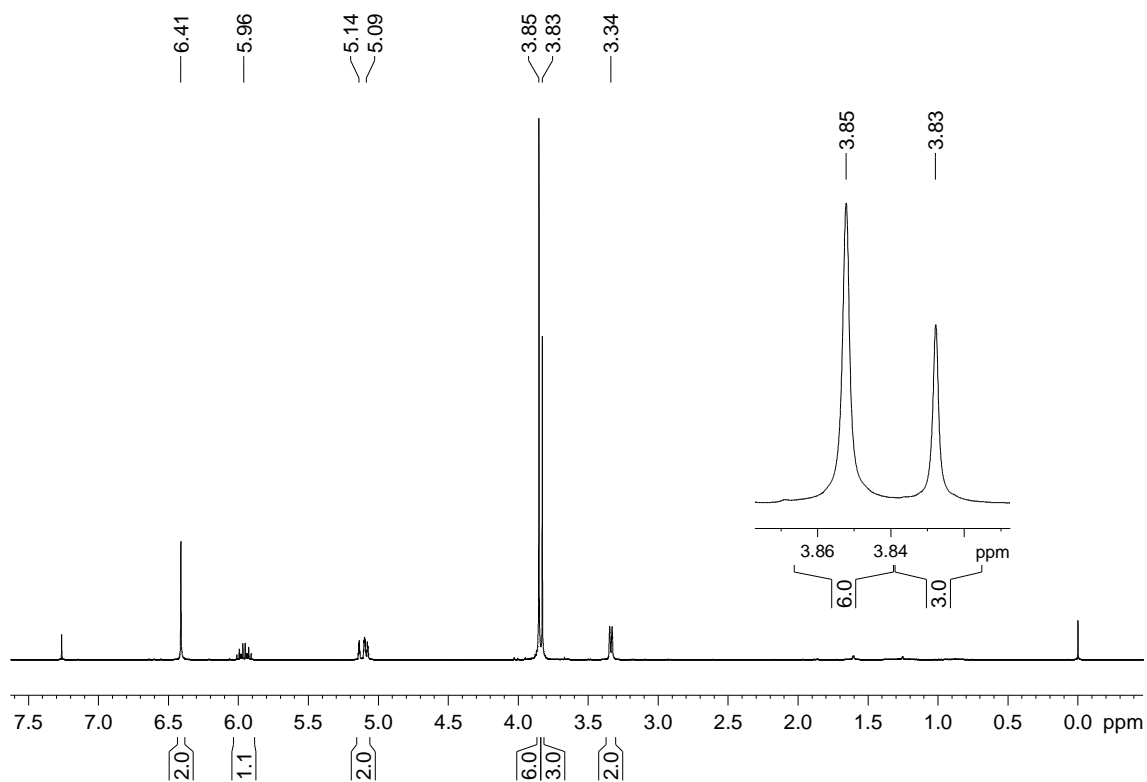
Espectro 23. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.



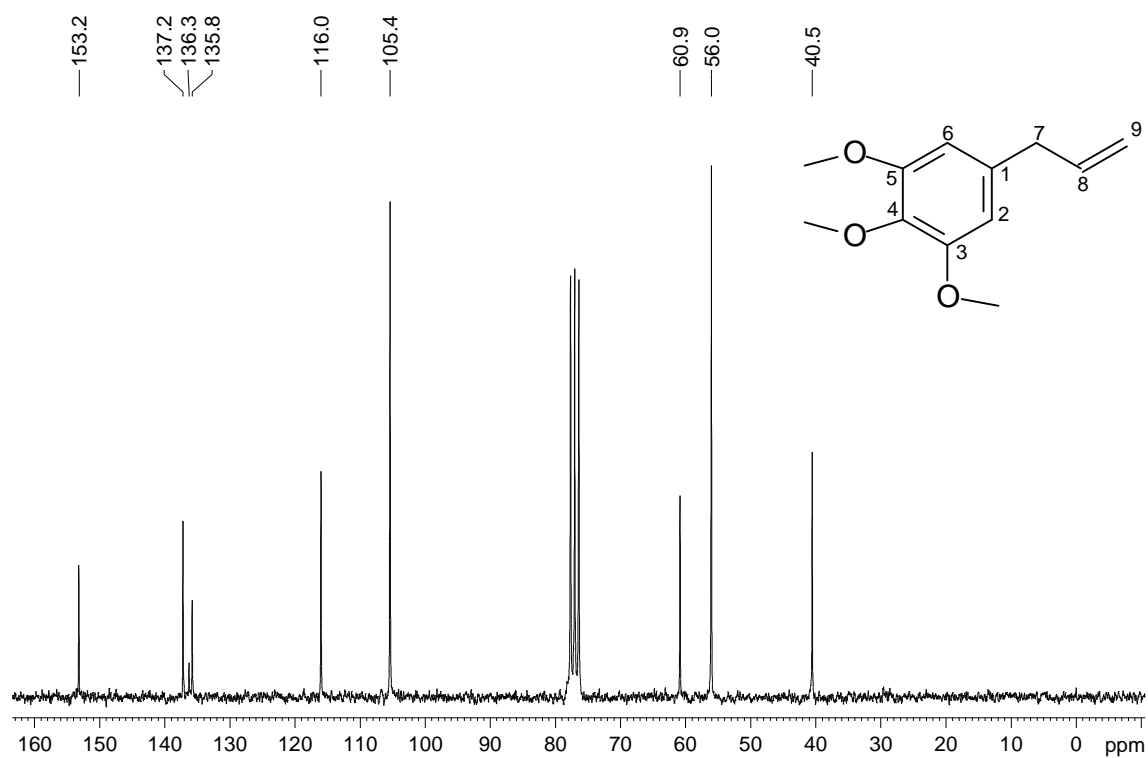
Espectro 24. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.



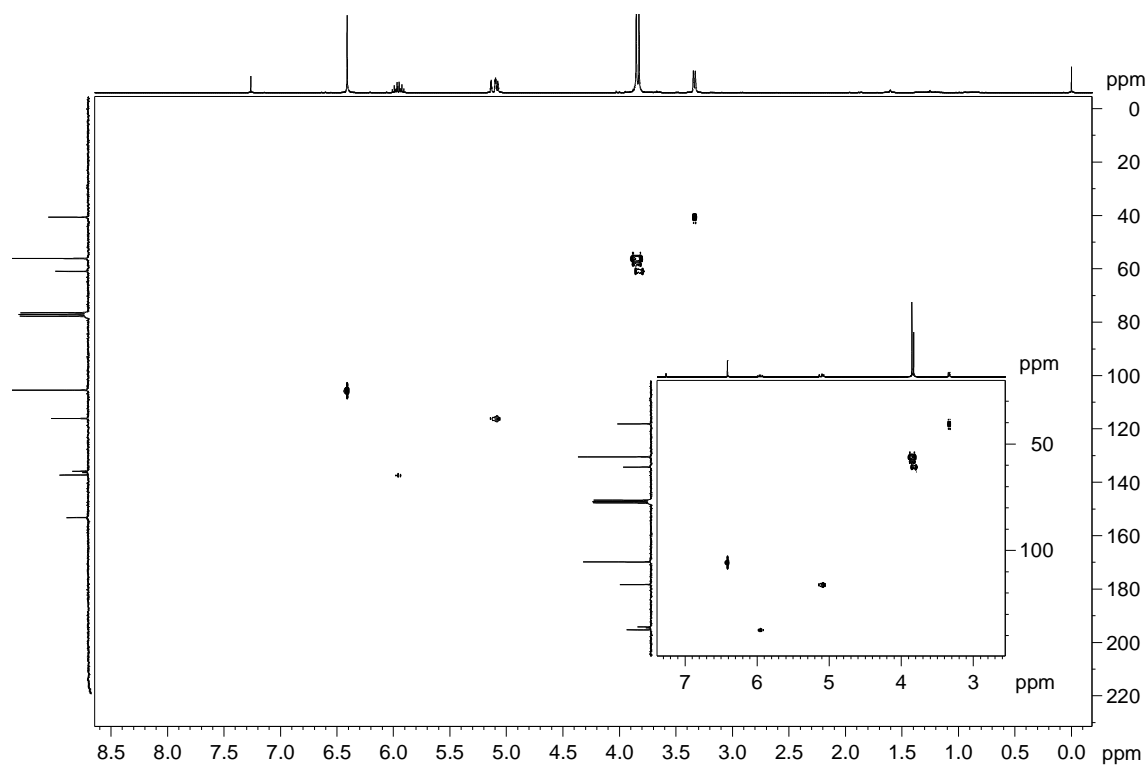
Espectro 25. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 2 e 3.



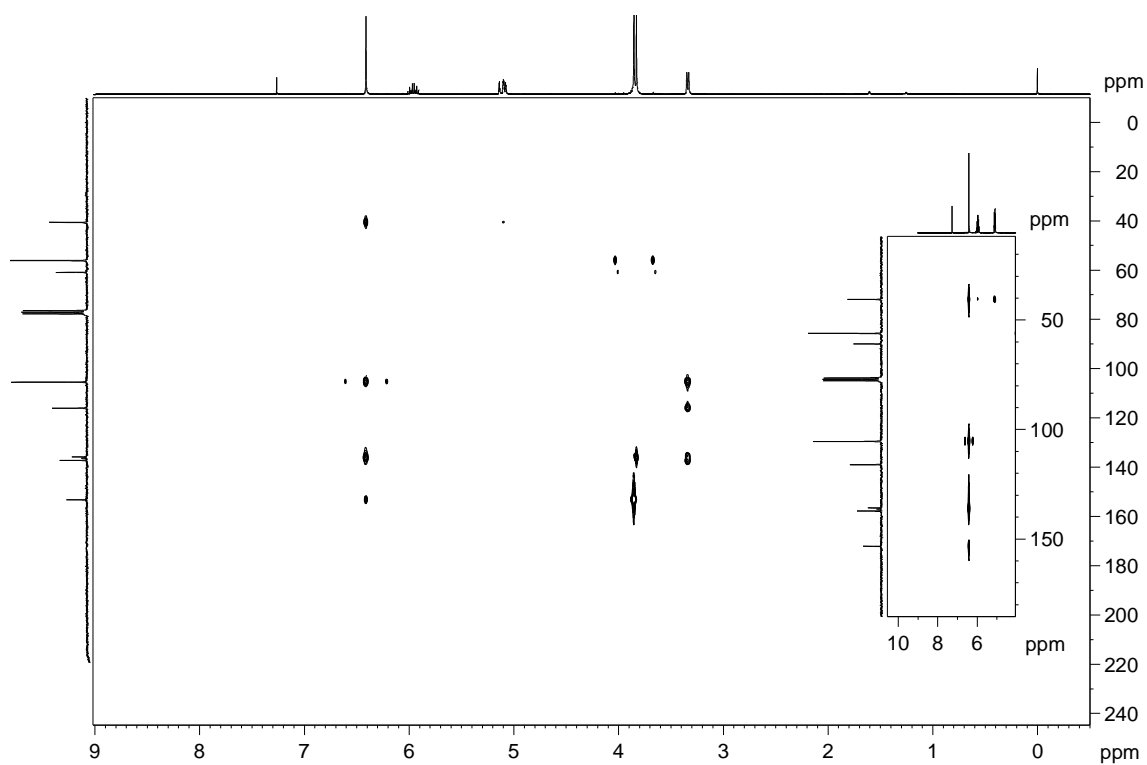
Espectro 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 4.



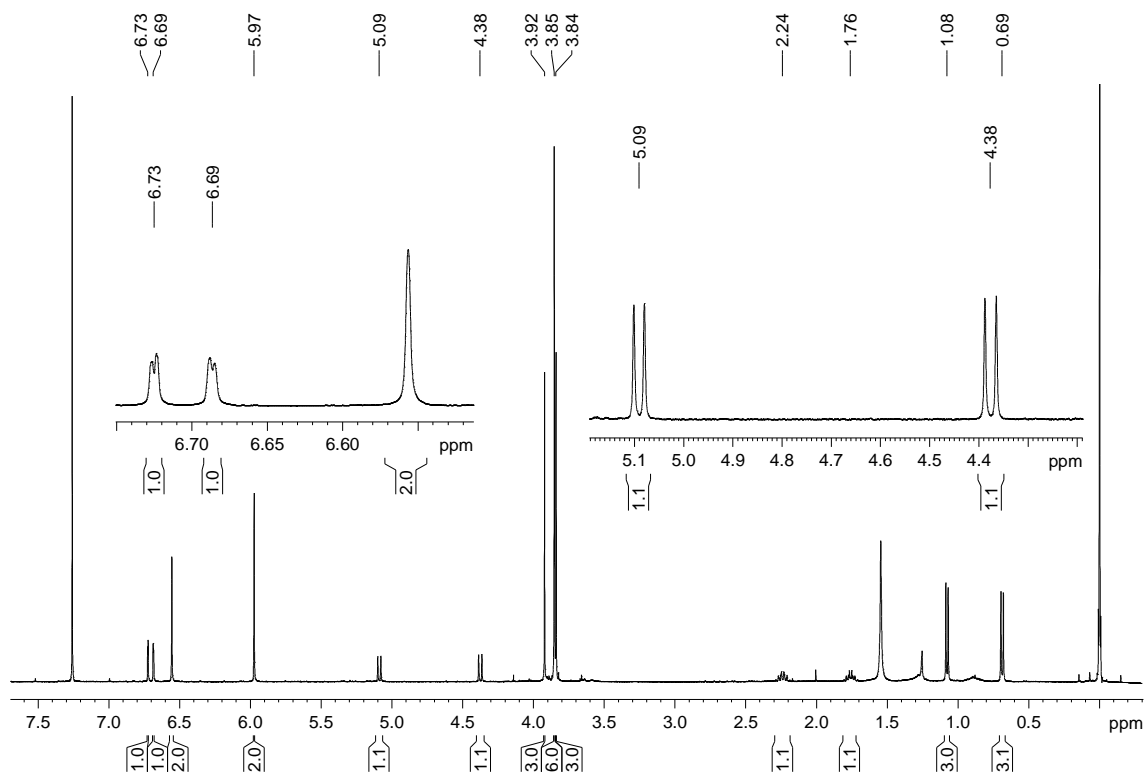
Espectro 27. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) de PCR 4.



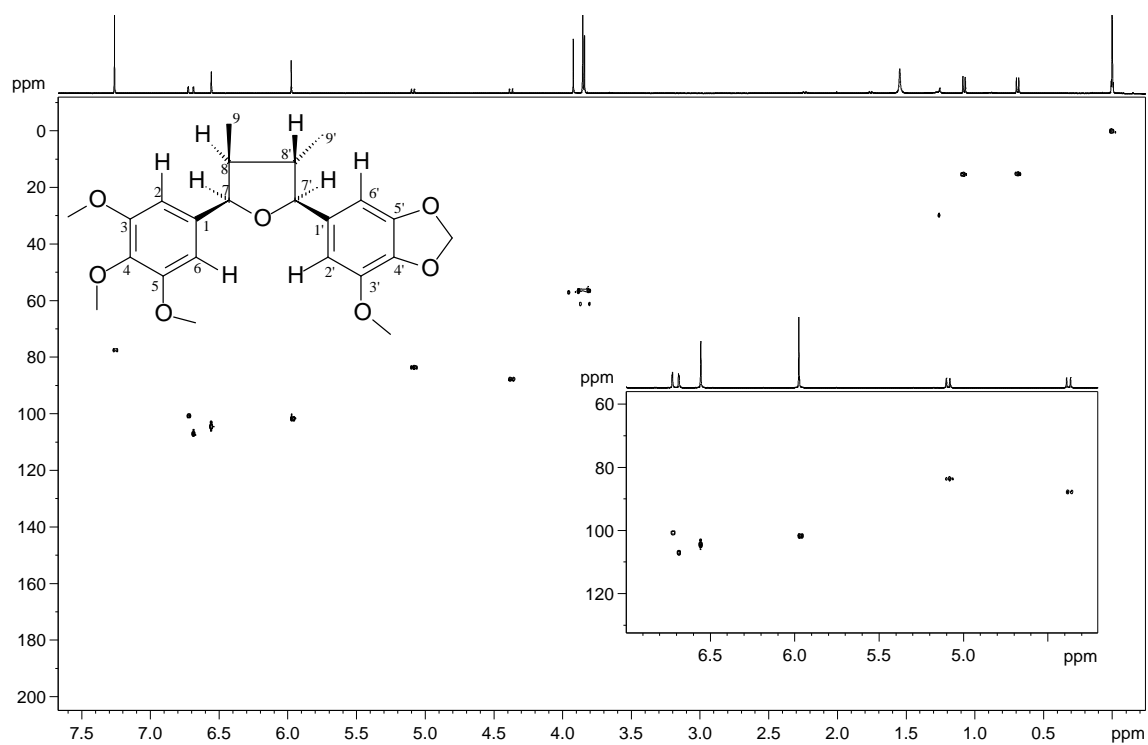
Espectro 28. Mapa de correlação direta ¹H-¹³C, proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl₃) de PCR 4.



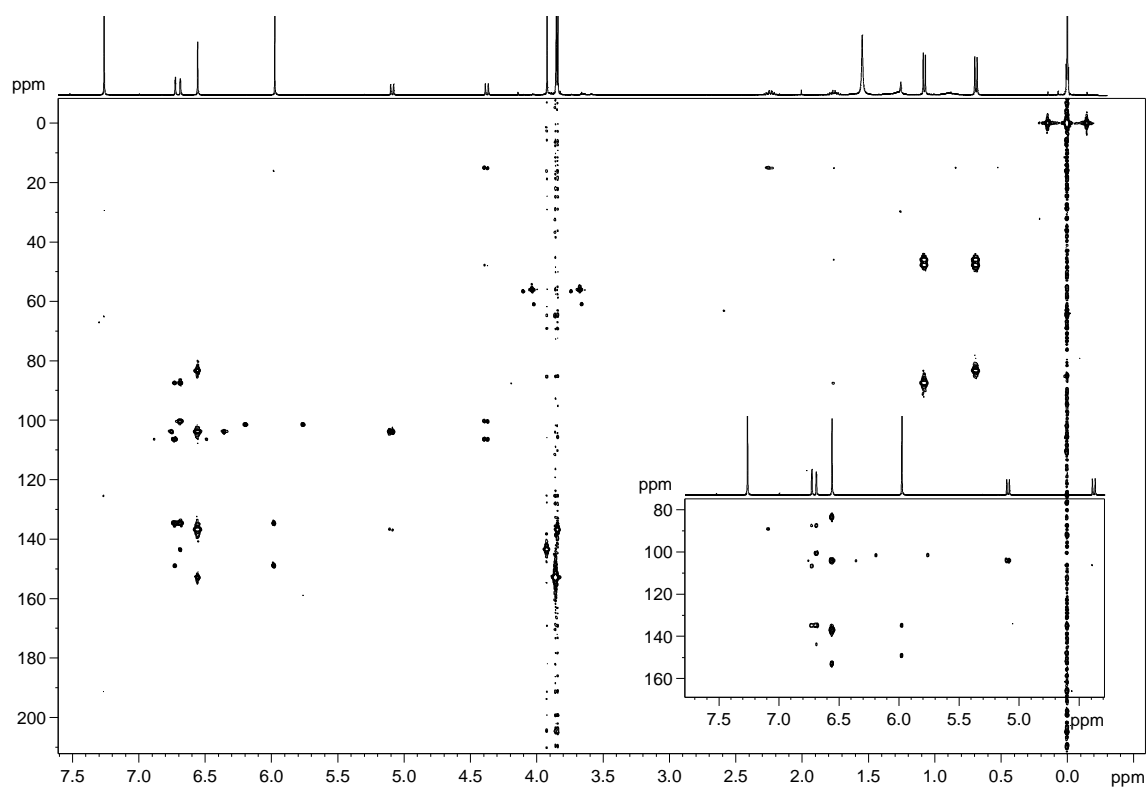
Espectro 29. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 4.



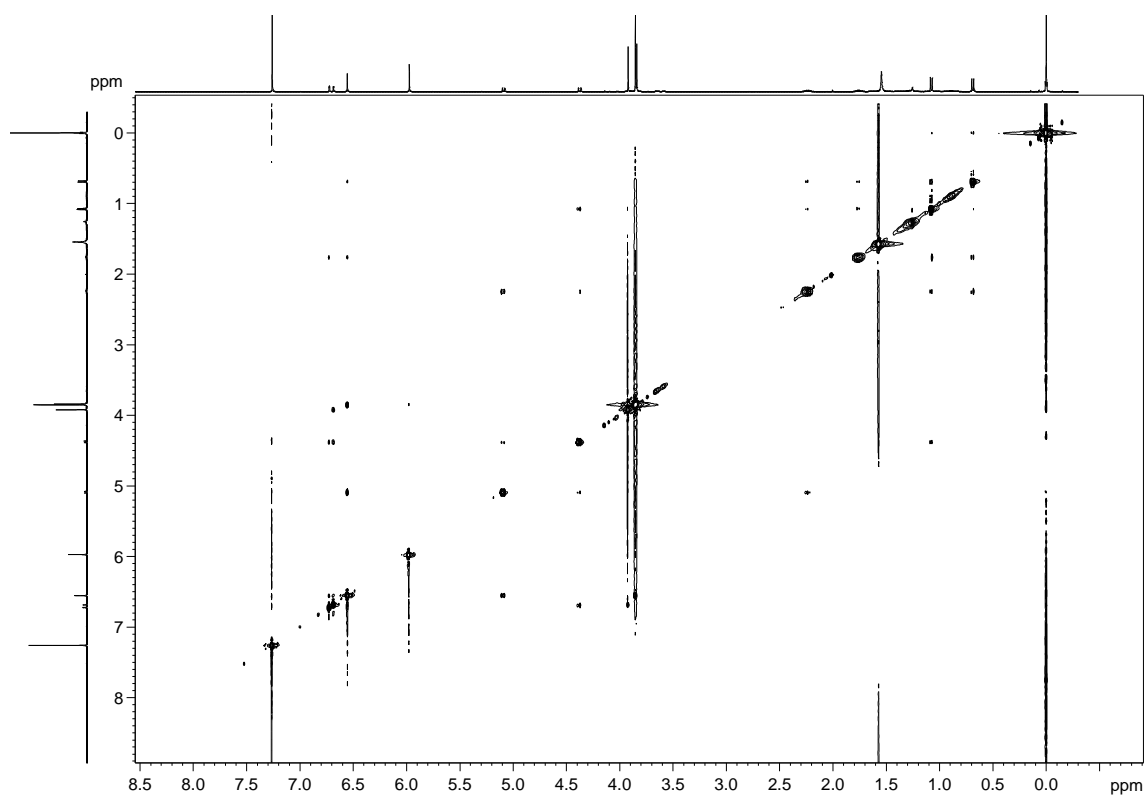
Espectro 30. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.



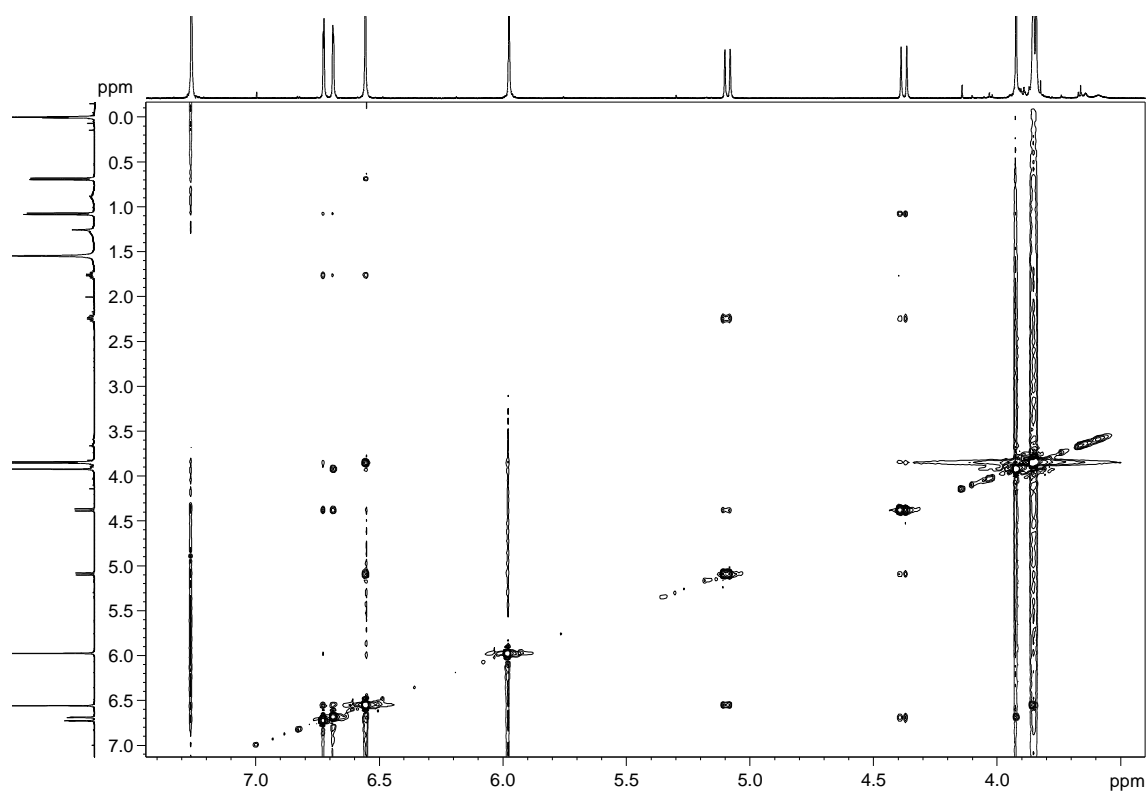
Espectro 31. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.



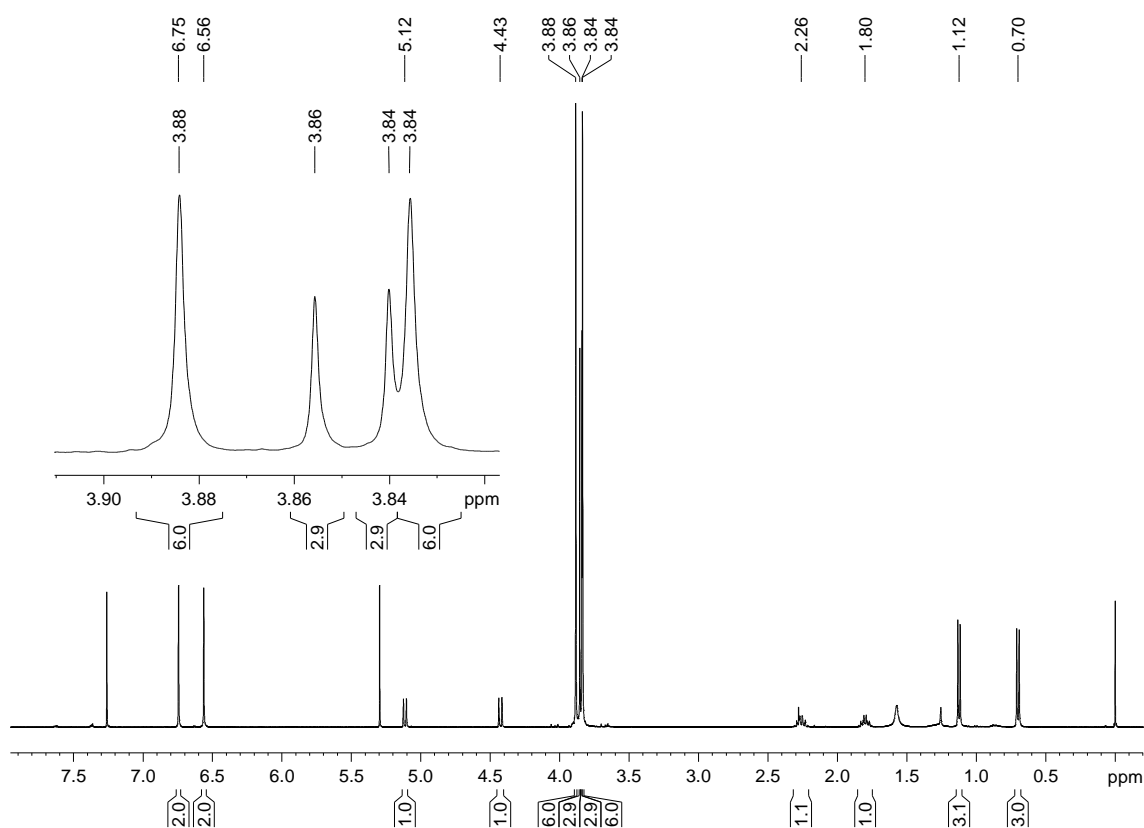
Espectro 32. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.



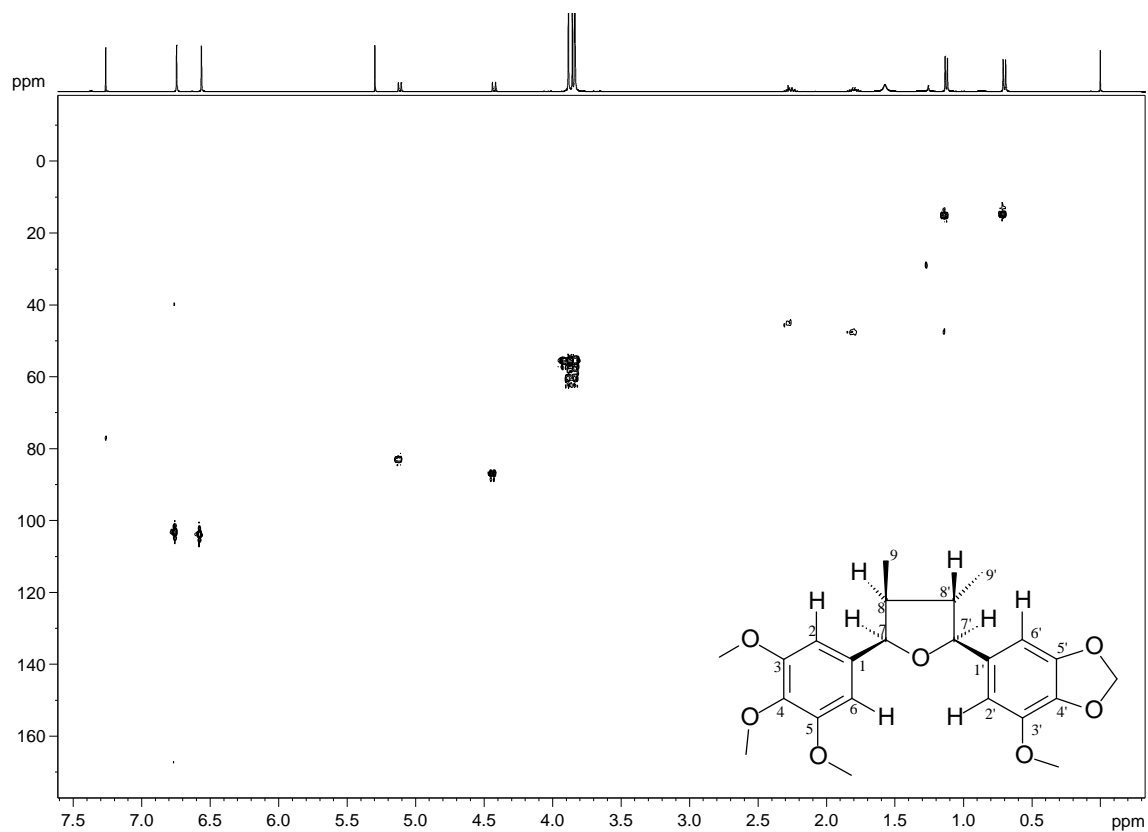
Espectro 33. Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.



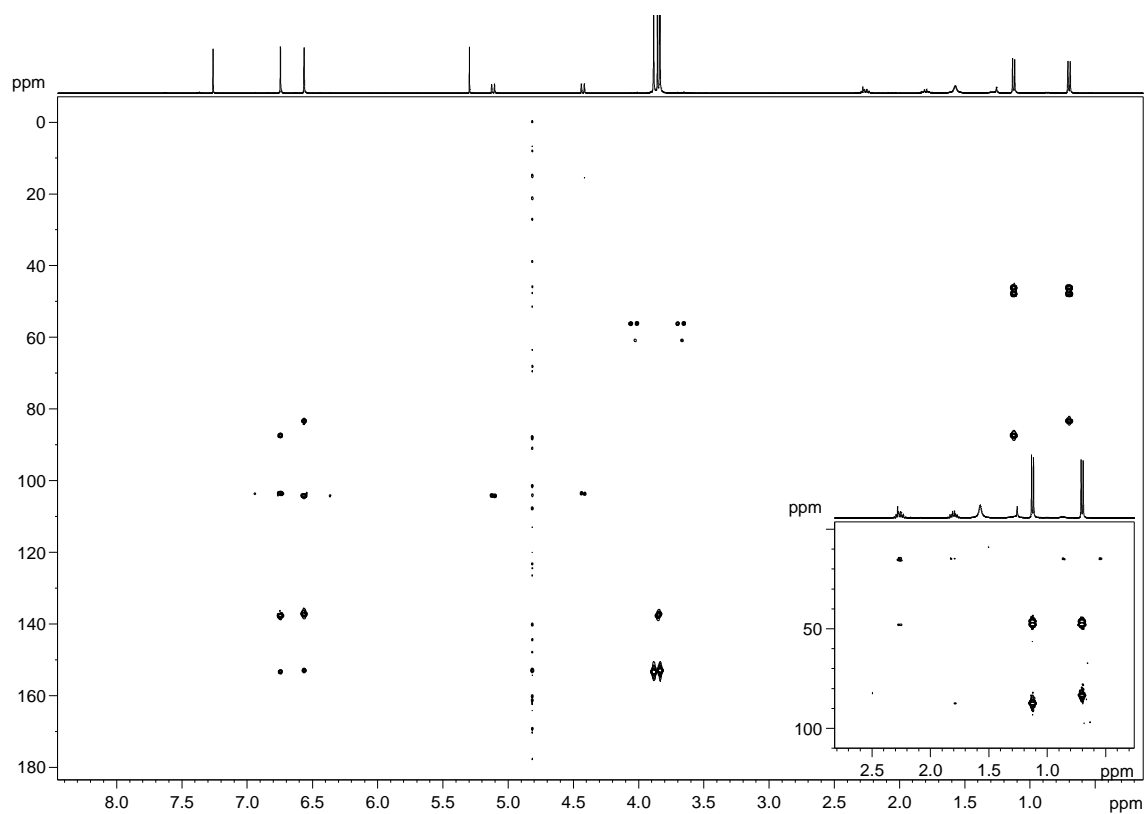
Espectro 34. Ampliação do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 5.



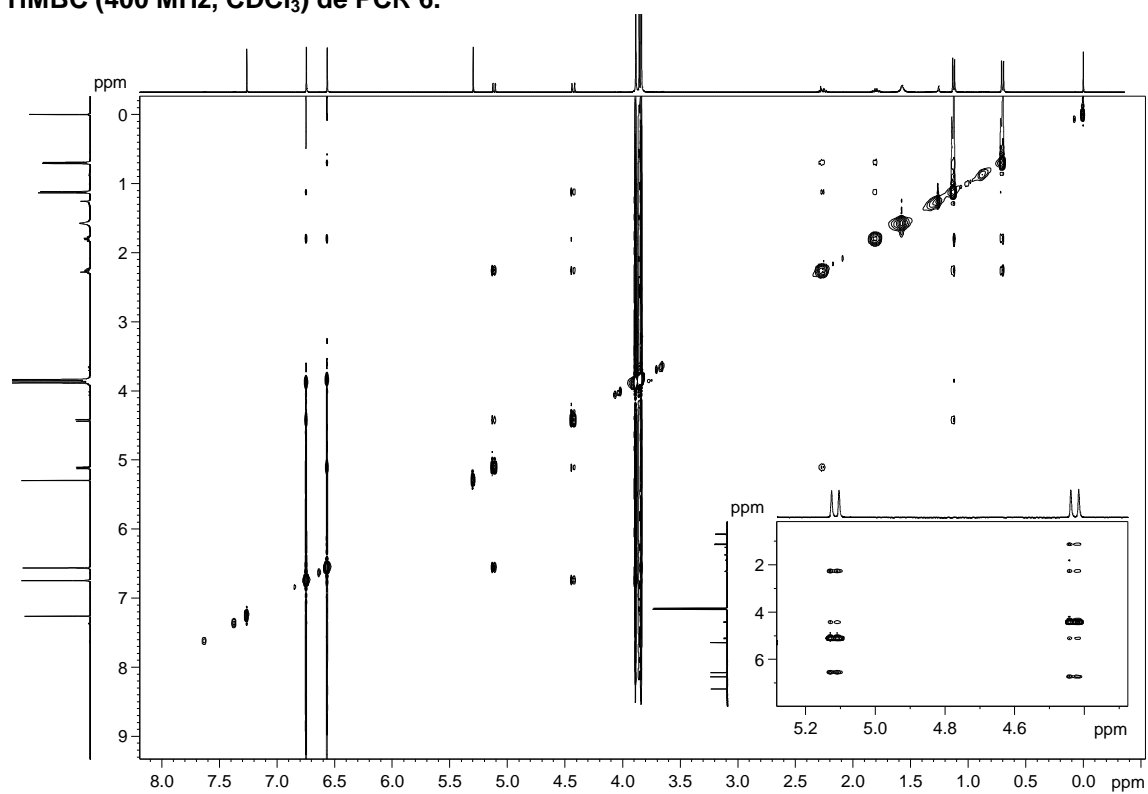
Espectro 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.



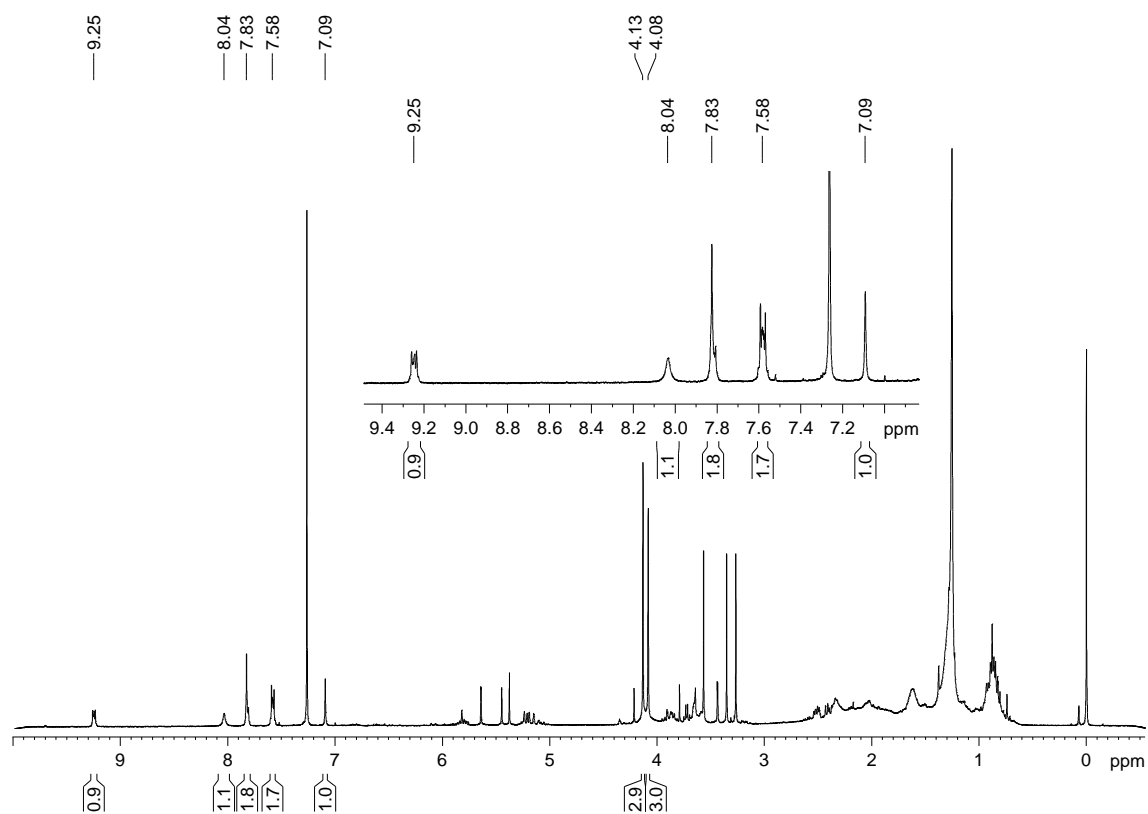
Espectro 36. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.



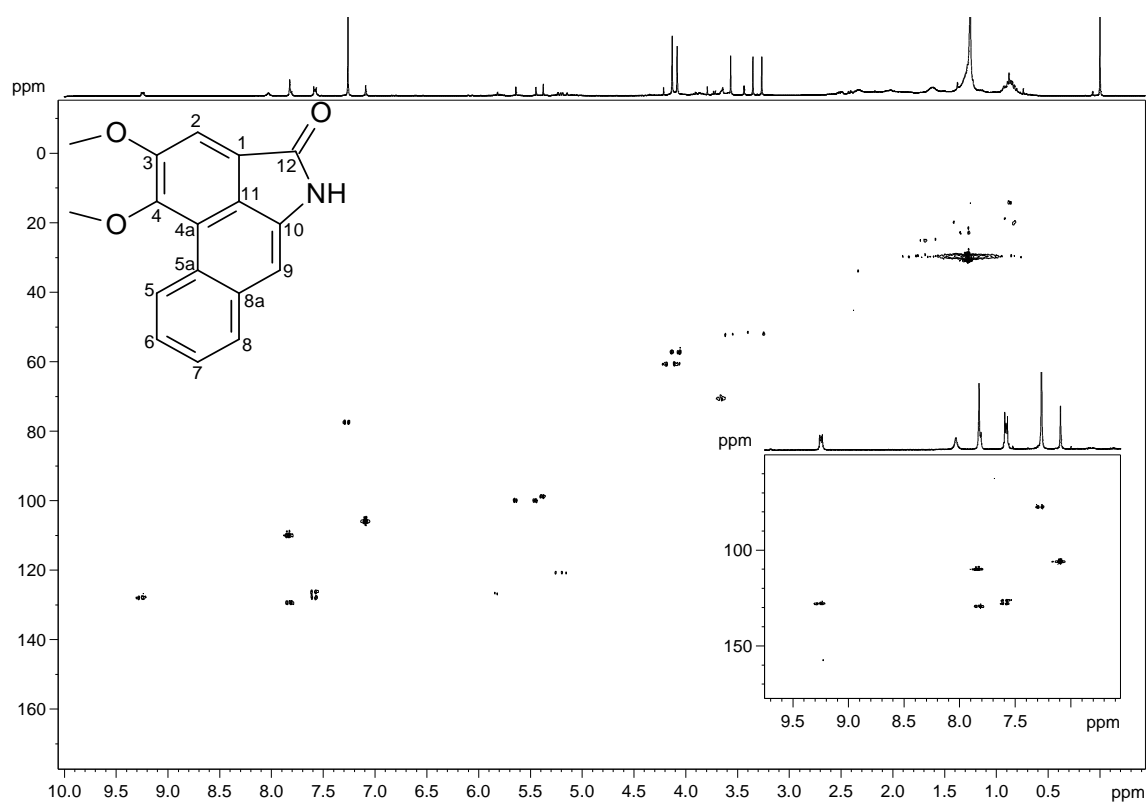
Espectro 37. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.



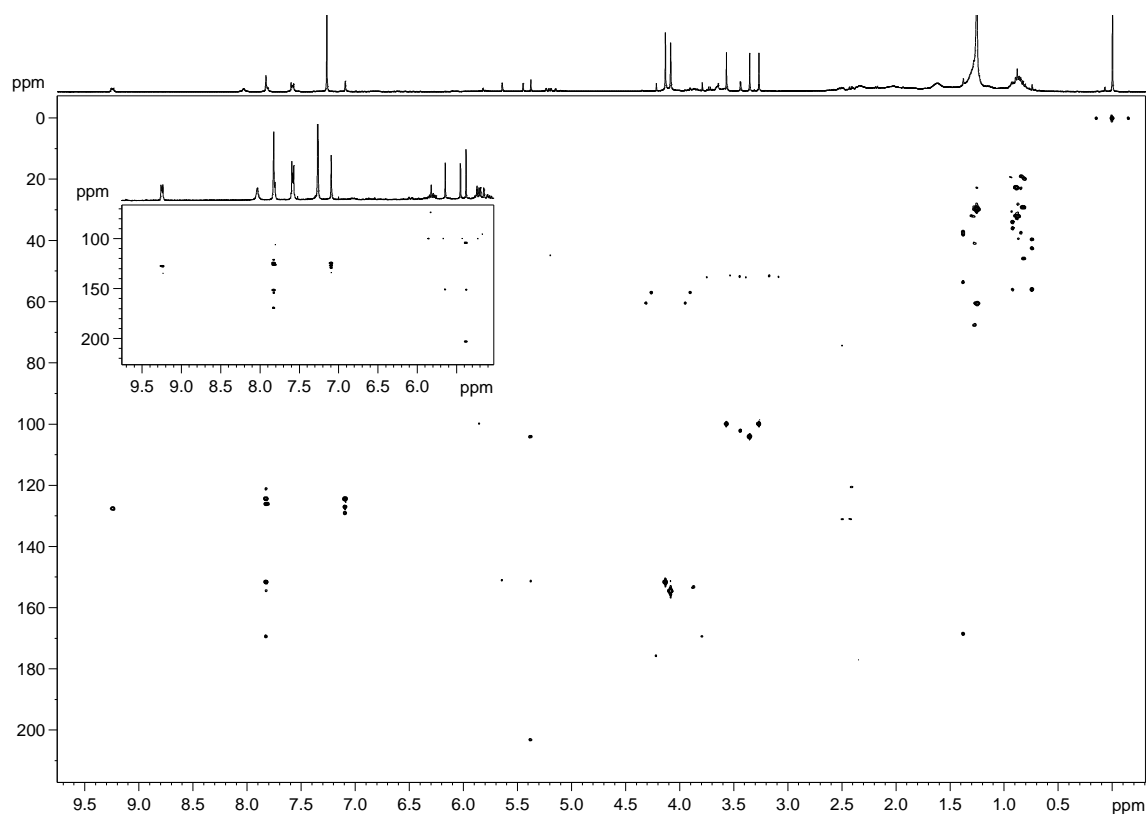
Espectro 38. Mapa de contorno ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 6.



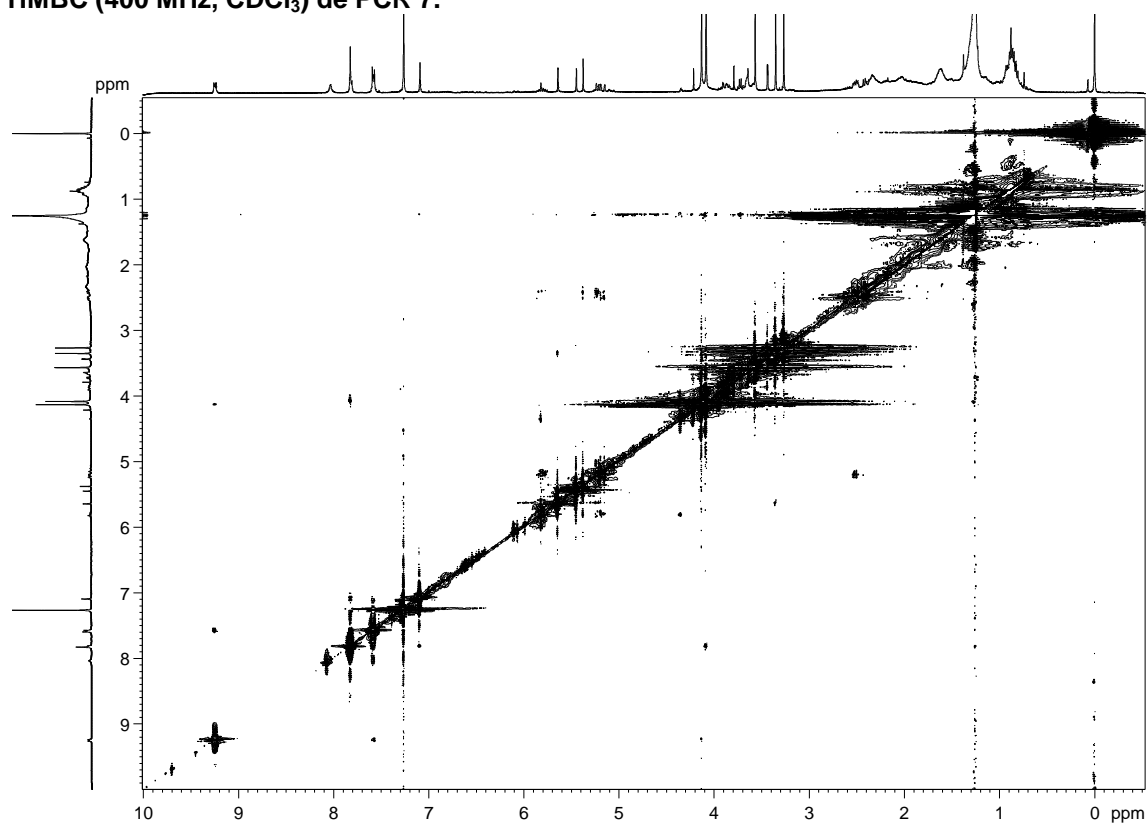
Espectro 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.



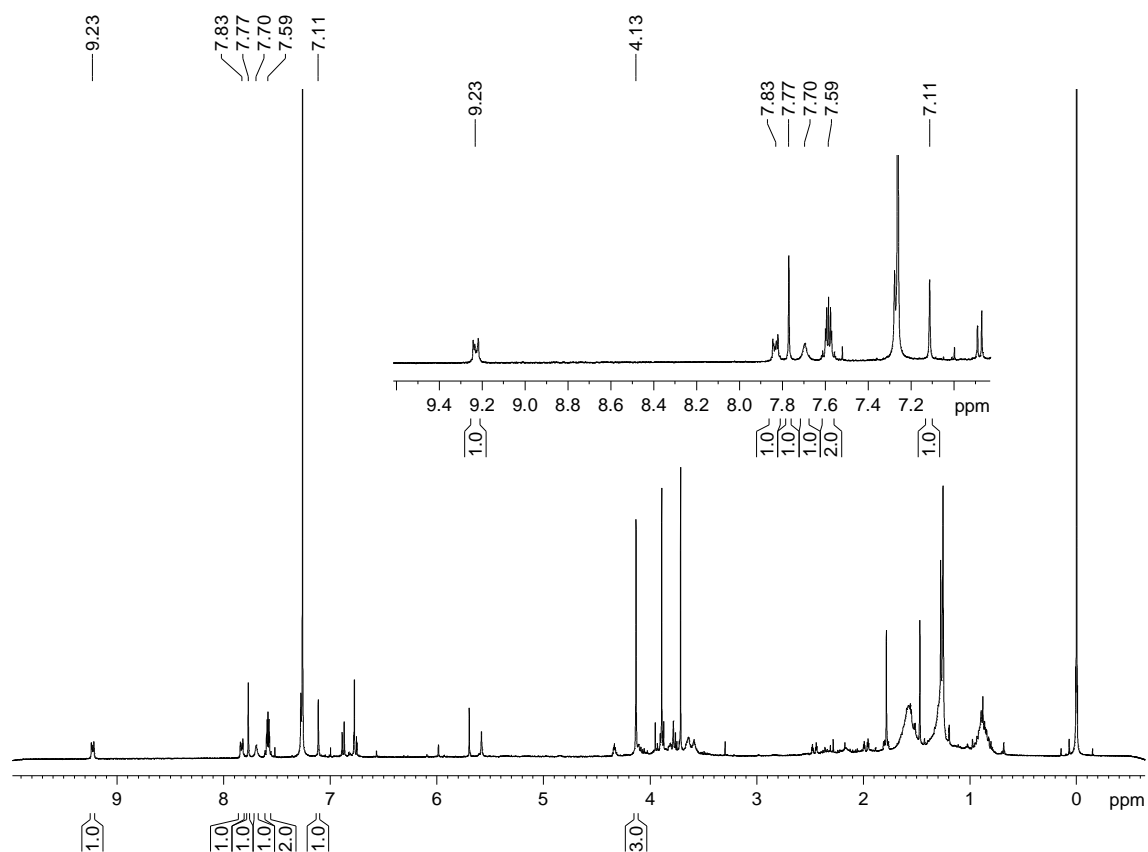
Espectro 40. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.



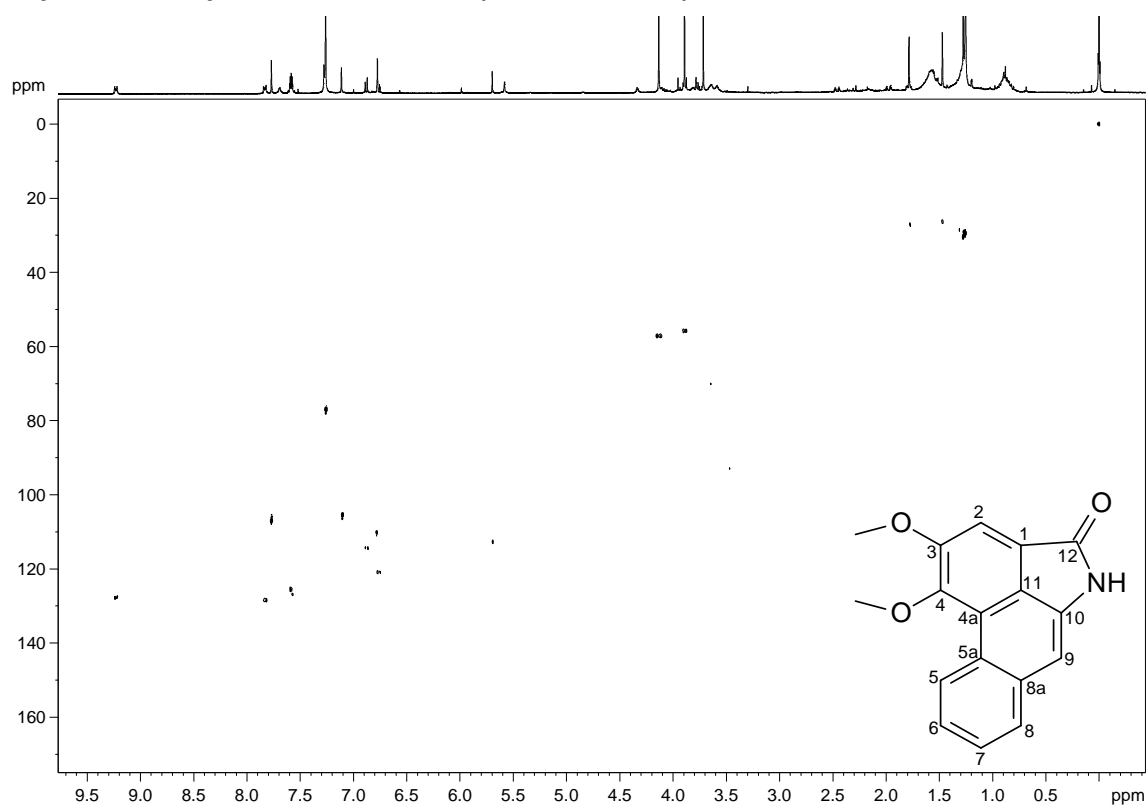
Espectro 41. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.



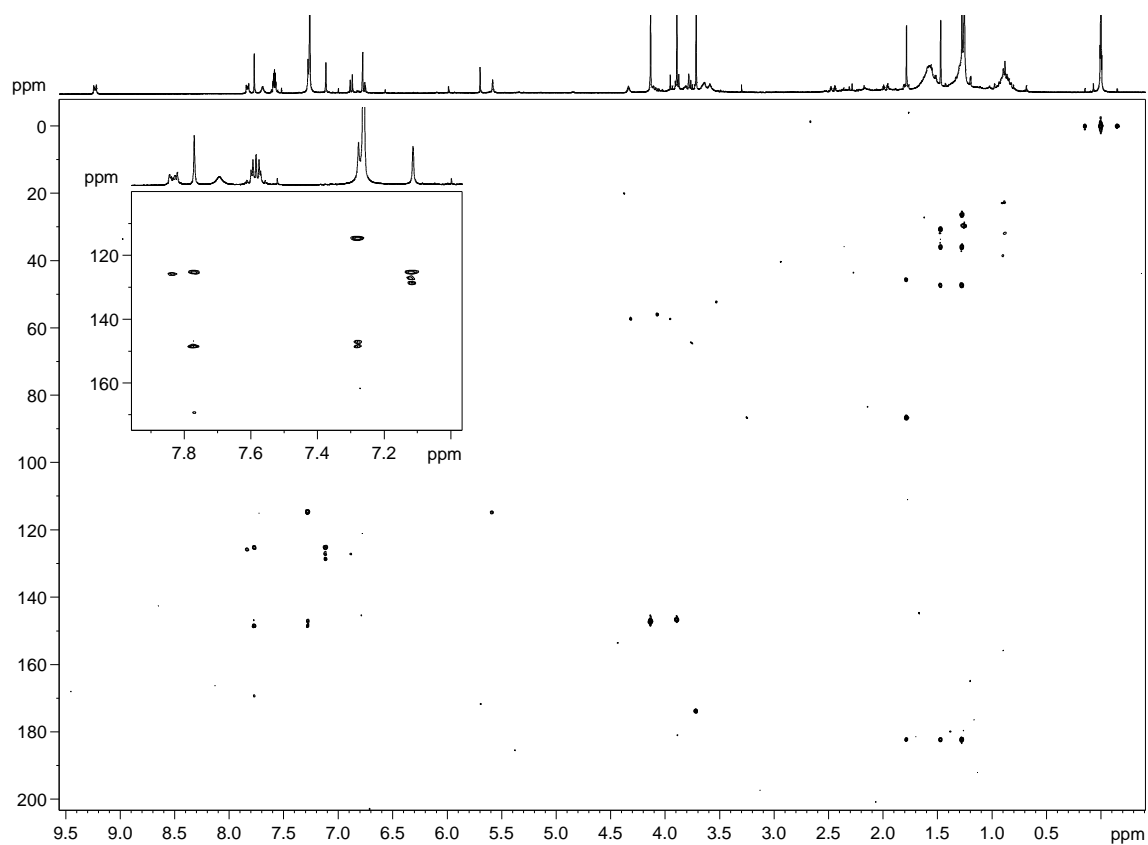
Espectro 42. Mapa de contorno ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 7.



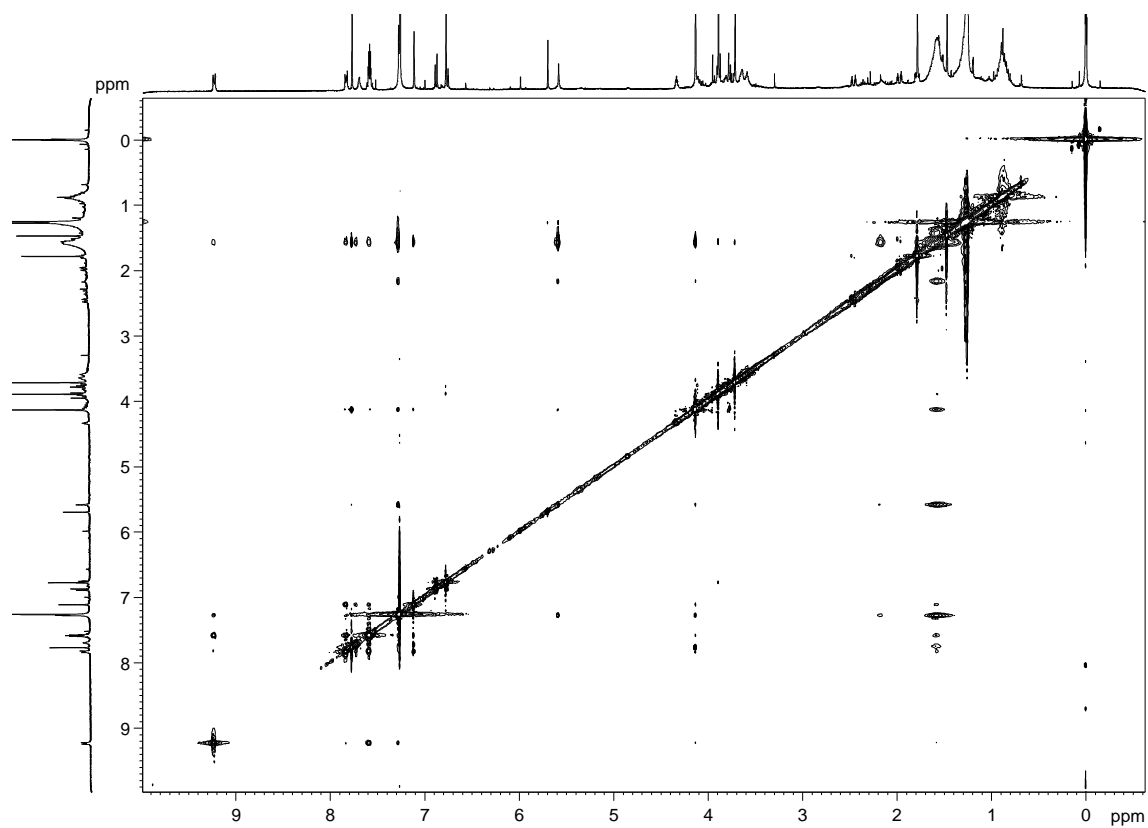
Espectro 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.



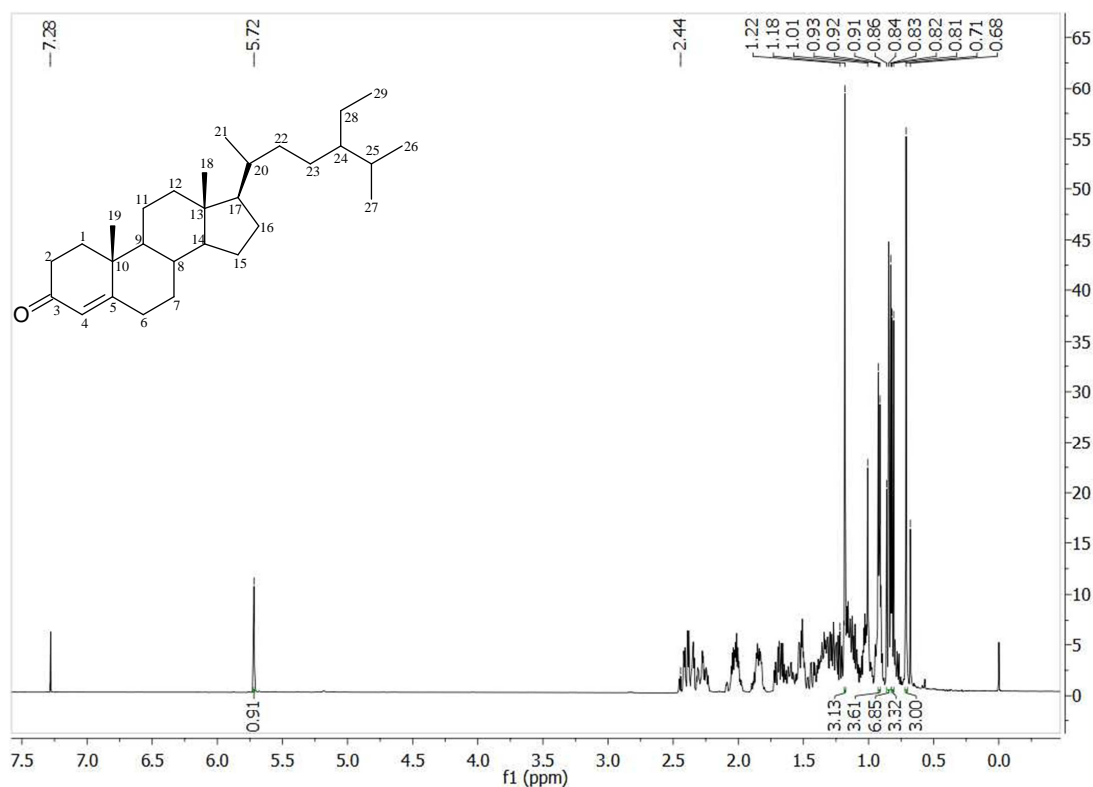
Espectro 44. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , proveniente do experimento de HSQC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.



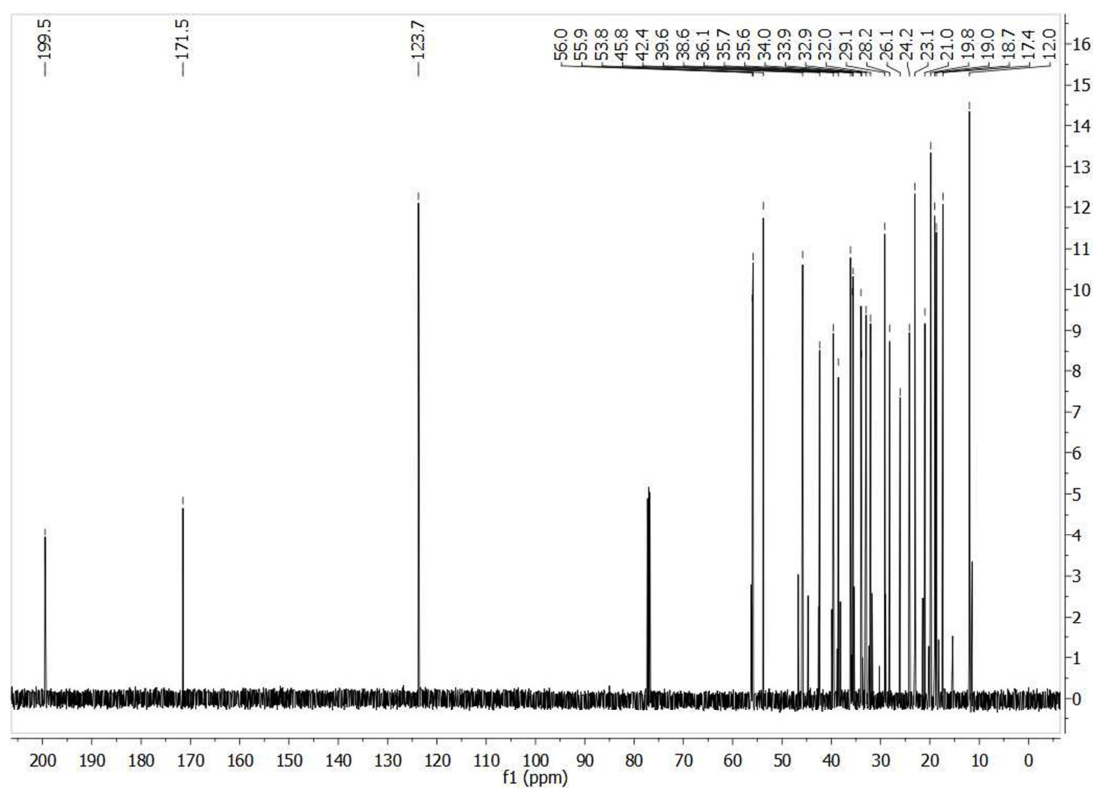
Espectro 45. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância, proveniente do experimento de HMBC (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.



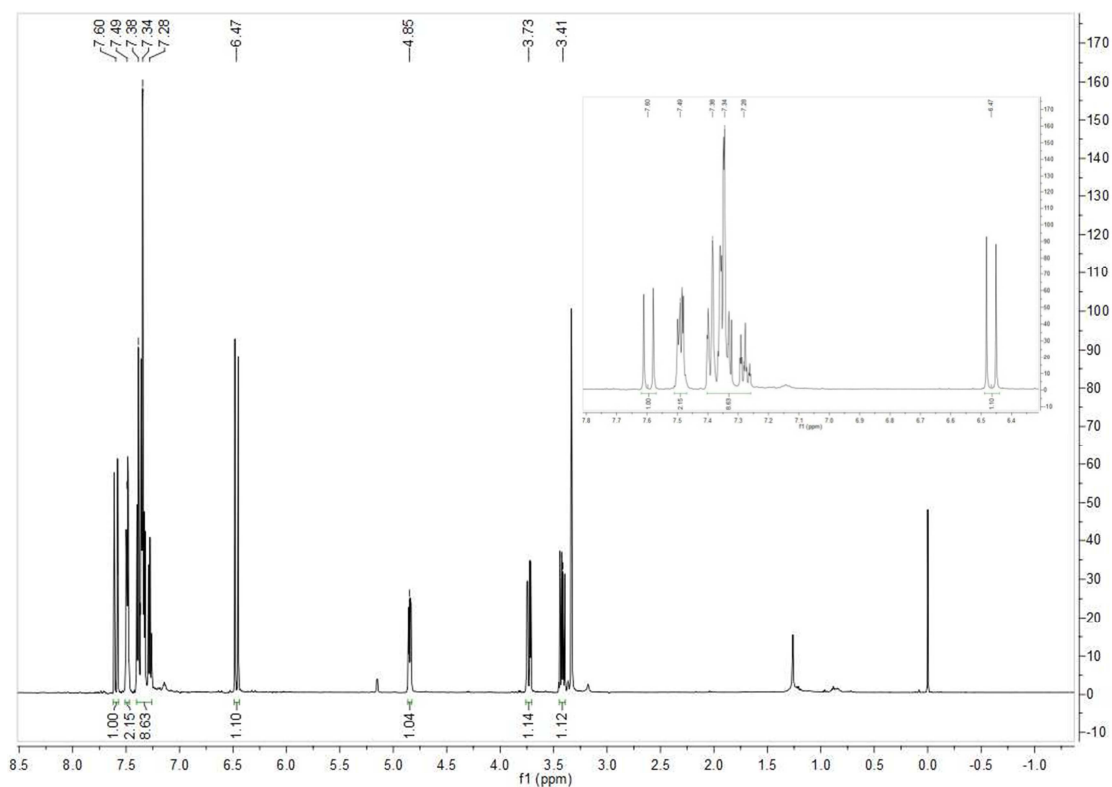
Espectro 46. Mapa de contorno ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CDCl_3) de PCR 8.



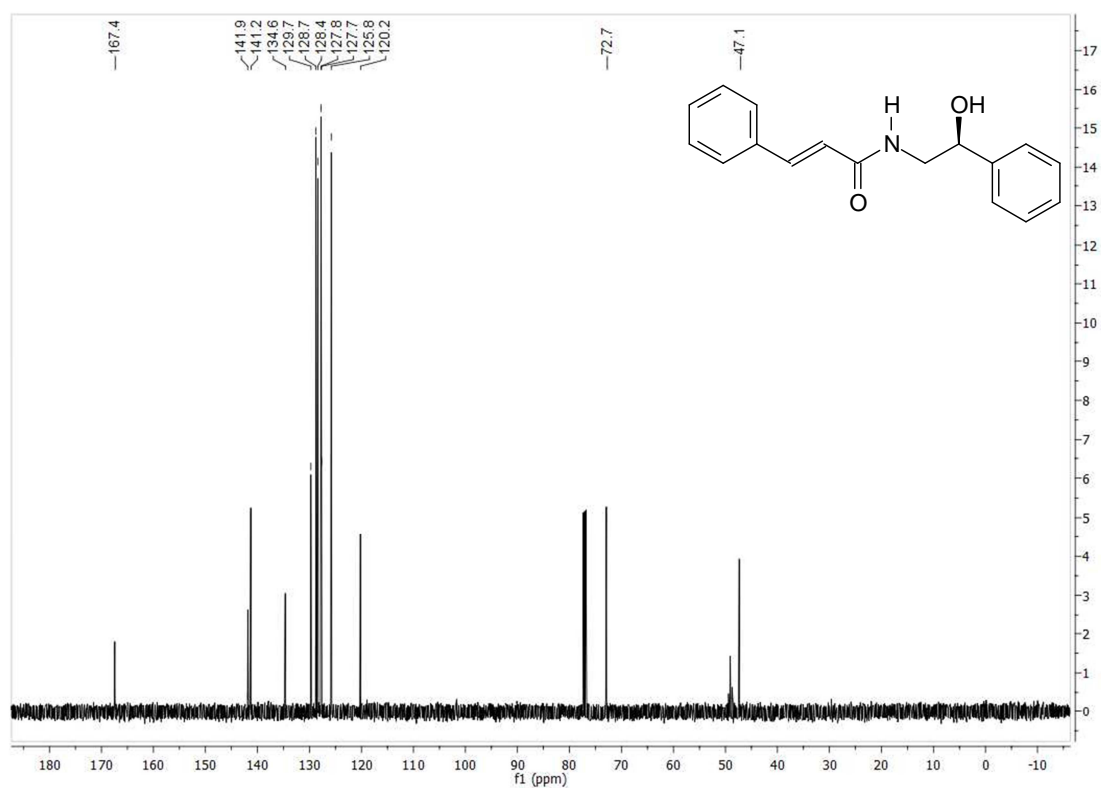
Espectro 47. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de stigmaster-4-en-3-ona.



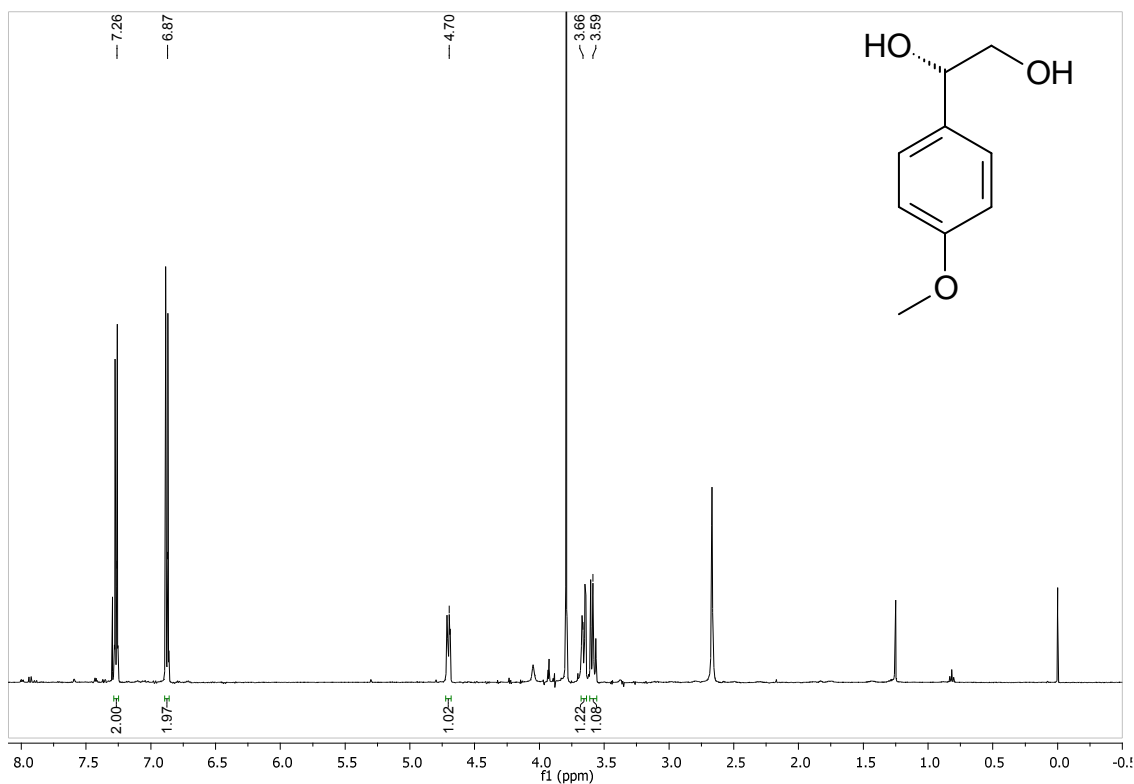
Espectro 48. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de stigmaster-4-en-3-ona.



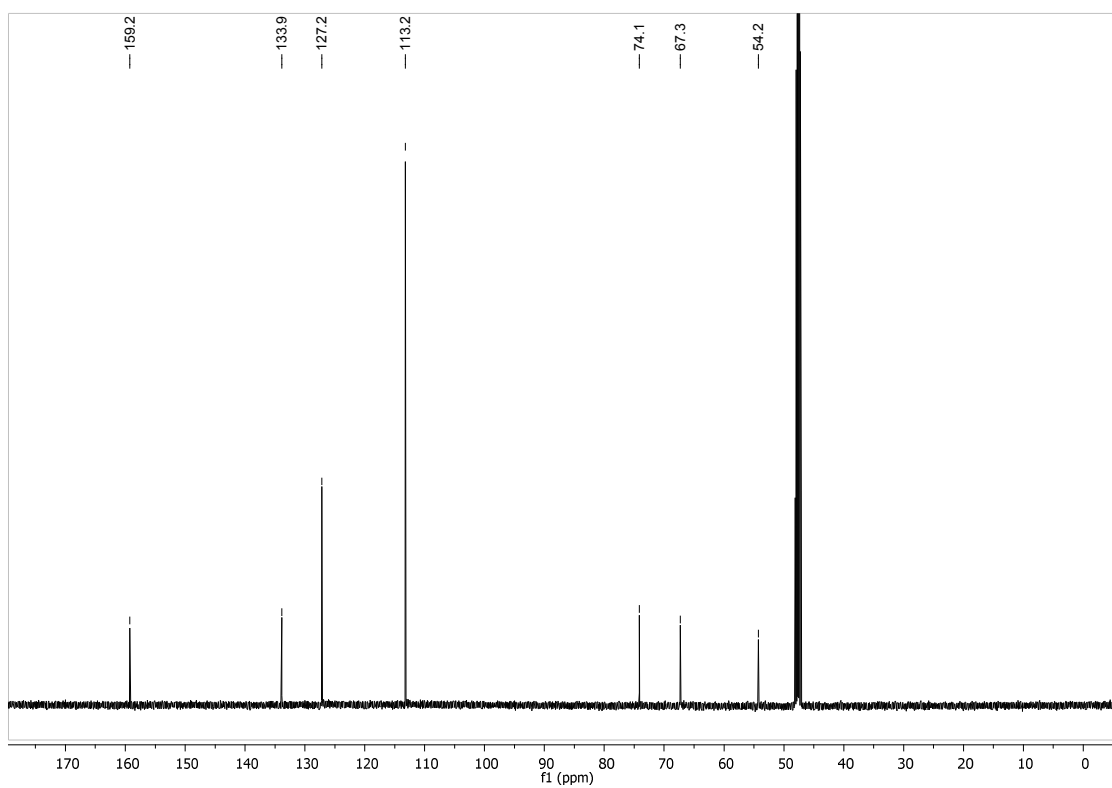
Espectro 49. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃ + MeOD) de (R)-6'-desmetoxi aegelina.



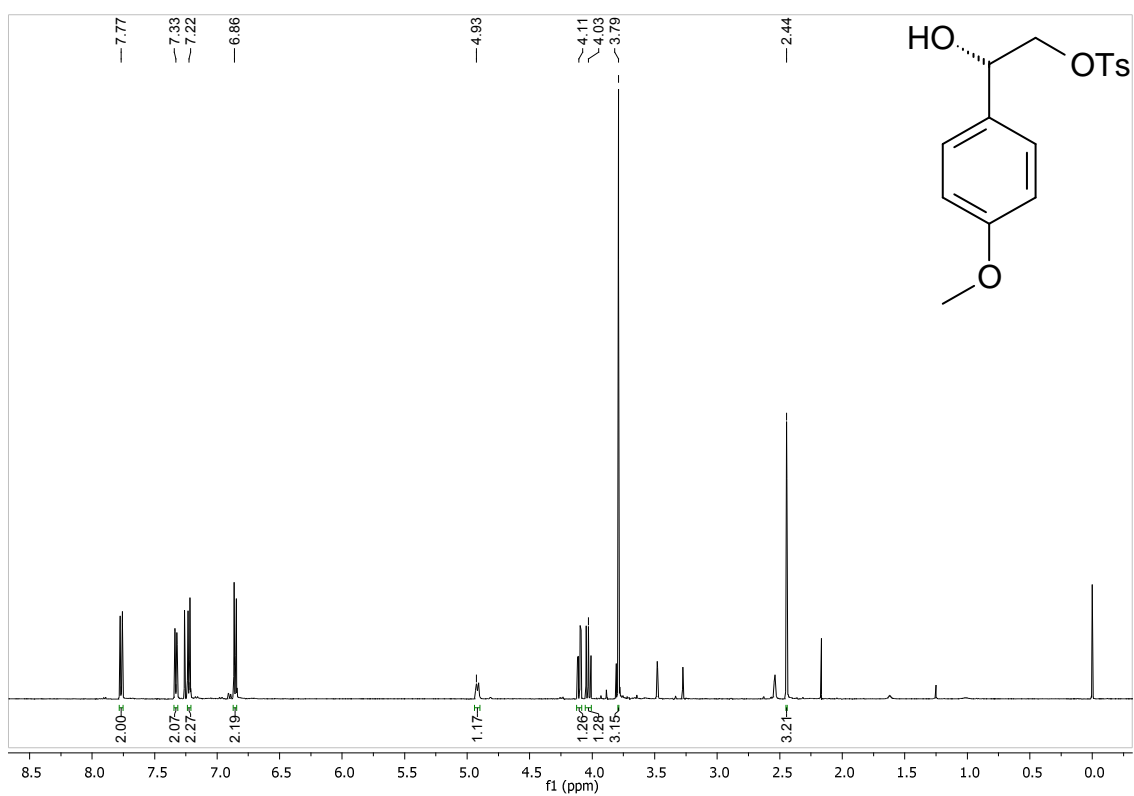
Espectro 50. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃ + MeOD) de (R)-6'-desmetoxi aegelina.



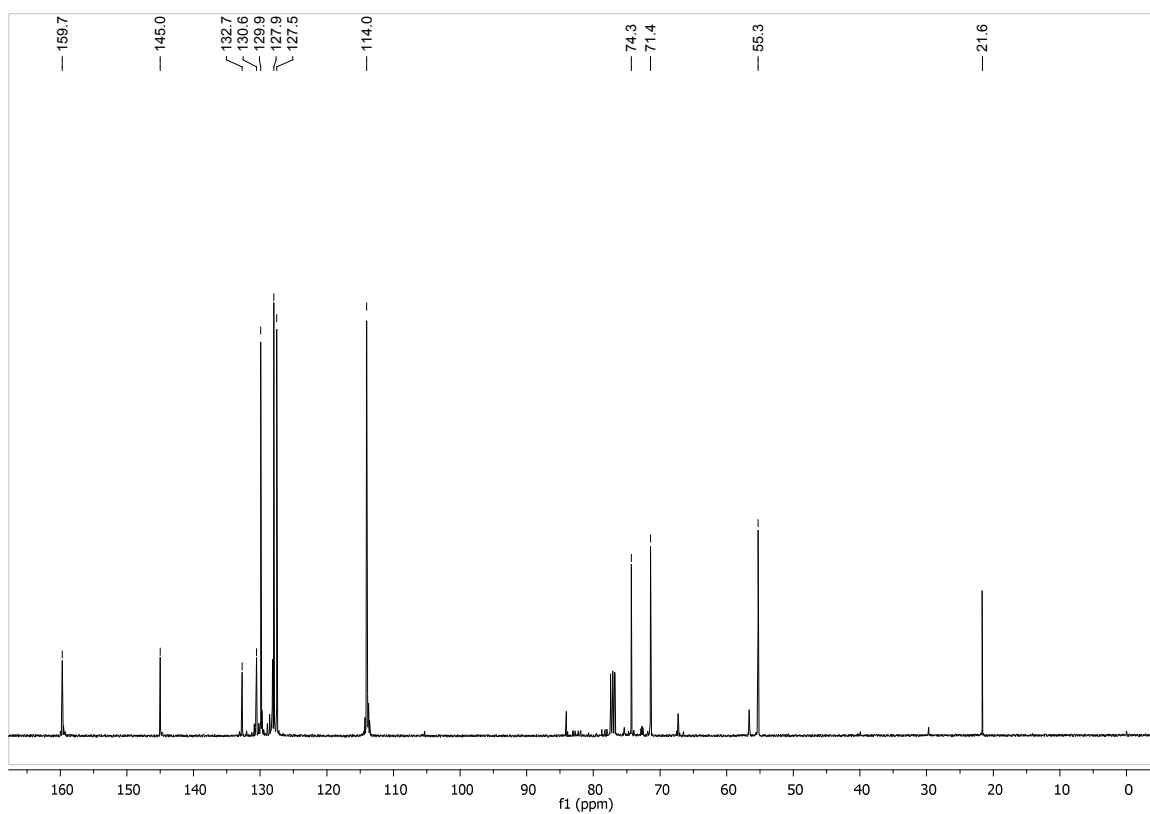
Espectro 51. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) do produto diidroxilado.



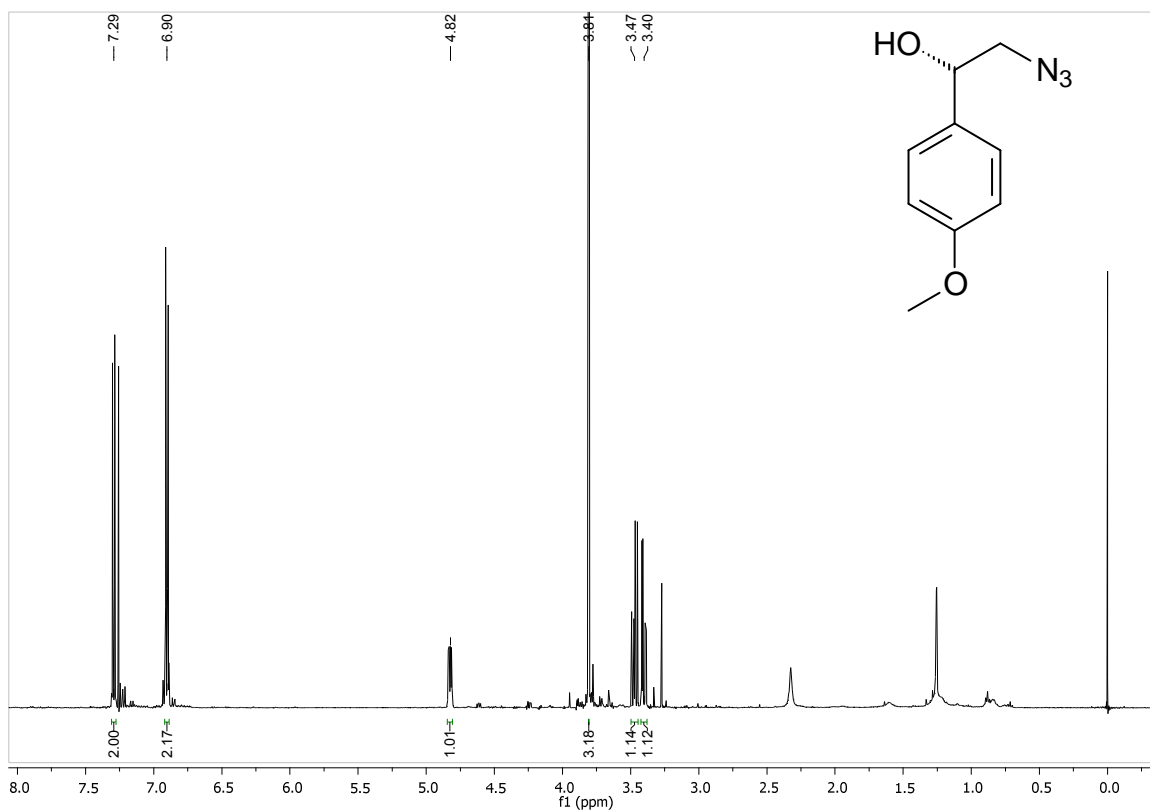
Espectro 52. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, MeOD) do produto diidroxilado.



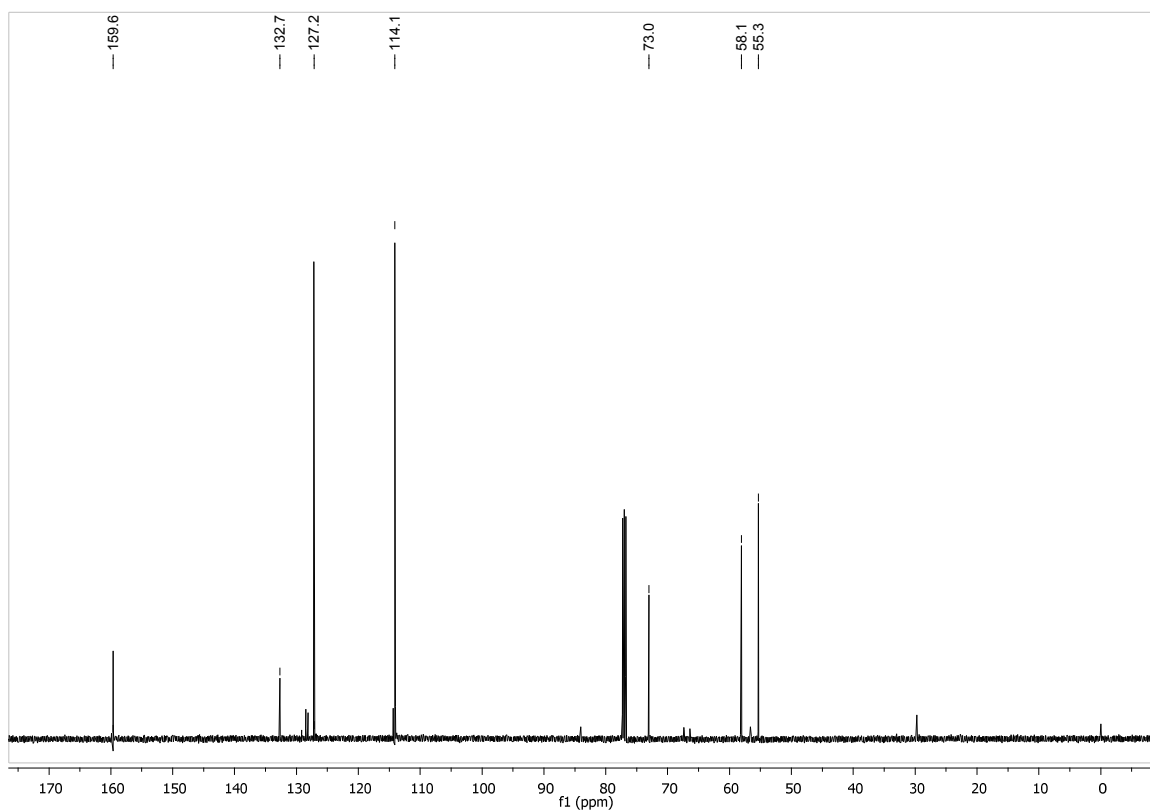
Espectro 53. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto tosilado.



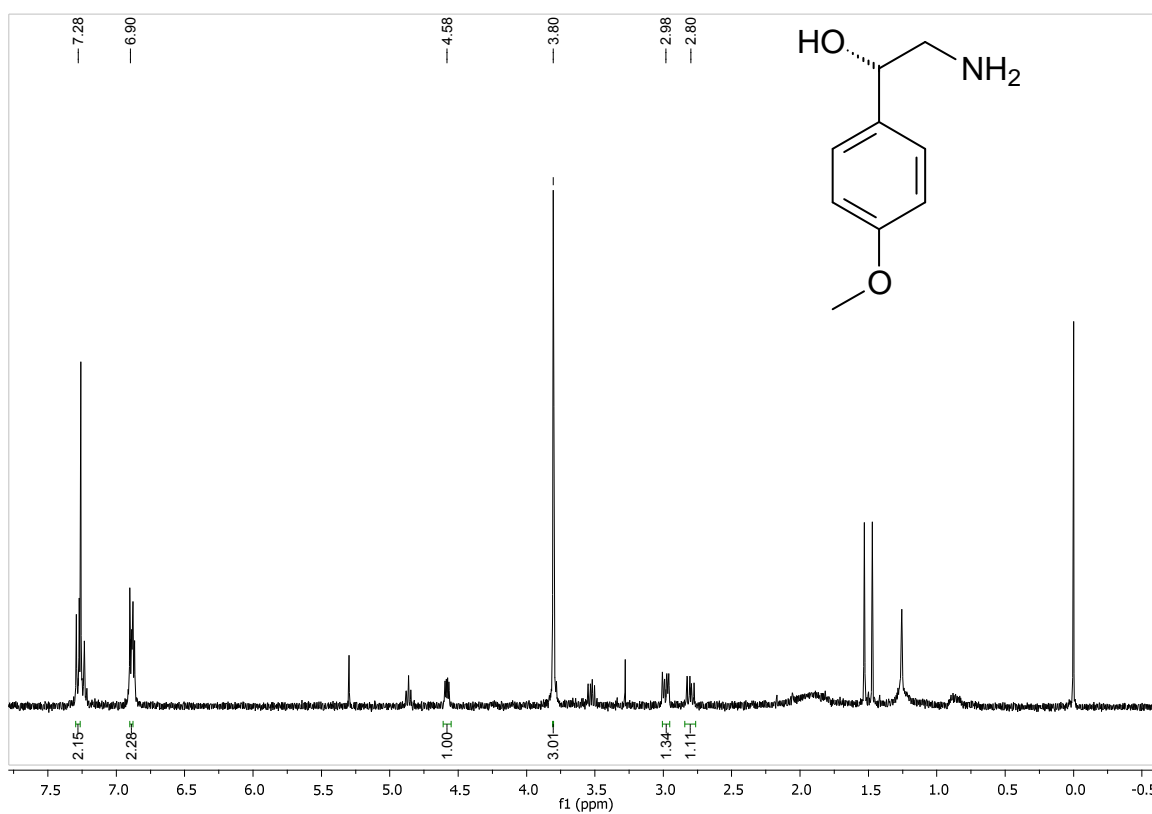
Espectro 54. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto tosilado.



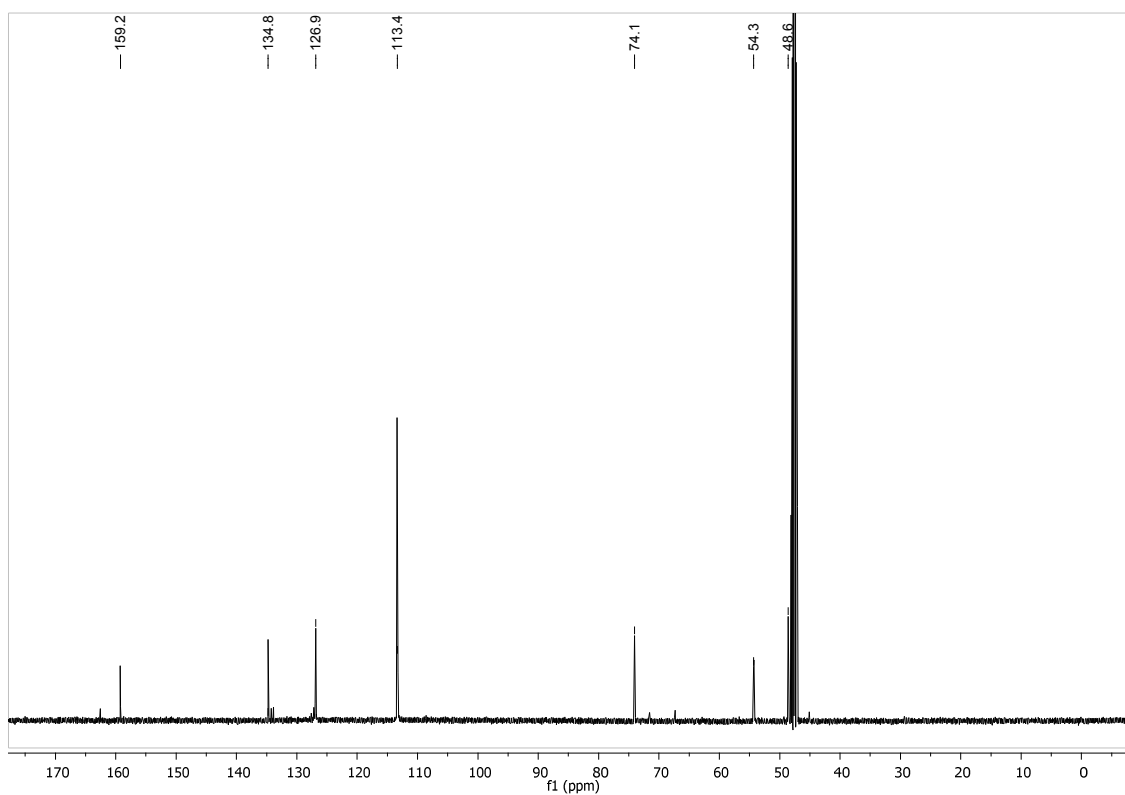
Espectro 55. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do produto azida.



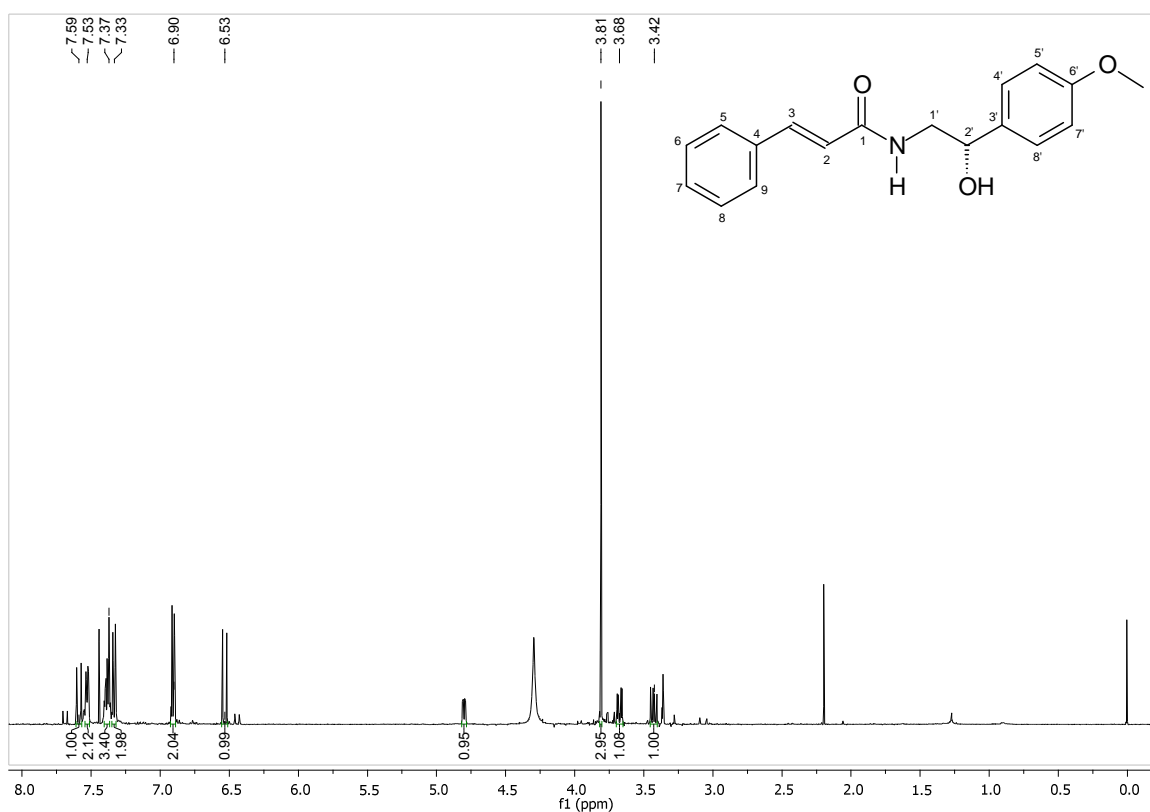
Espectro 56. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do produto azida.



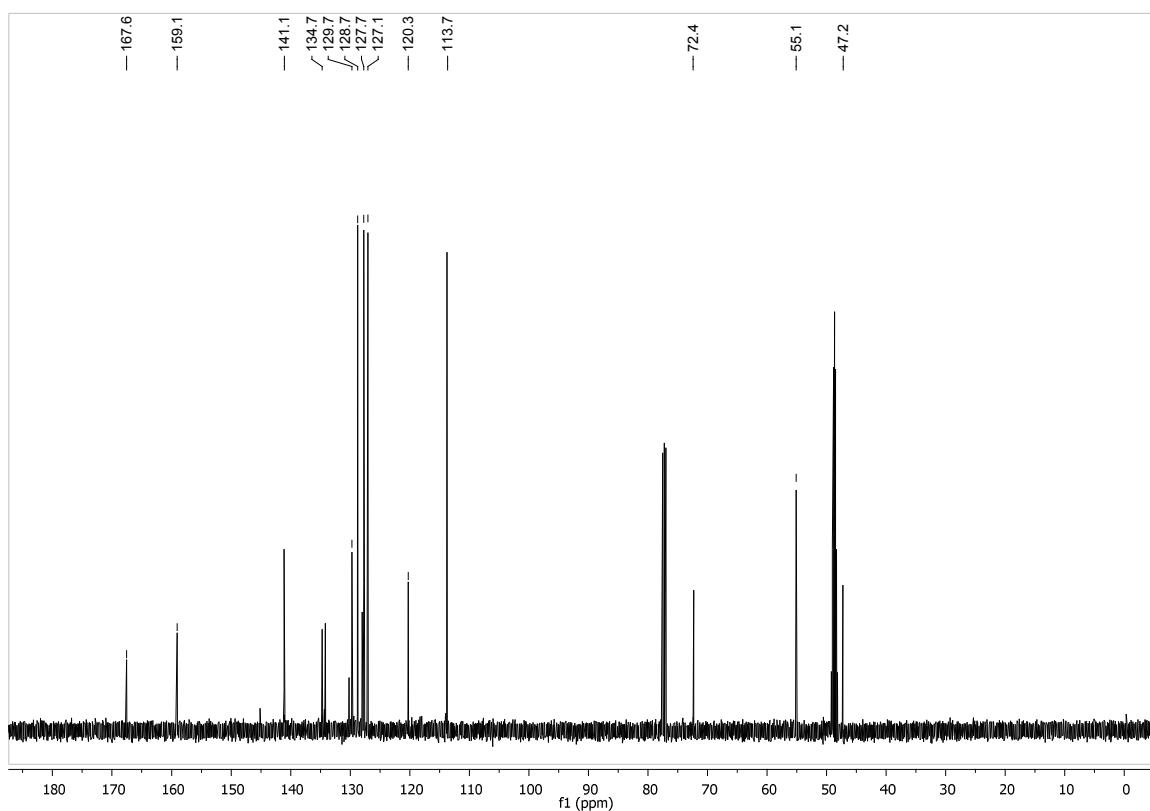
Espectro 57. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) do produto amina.



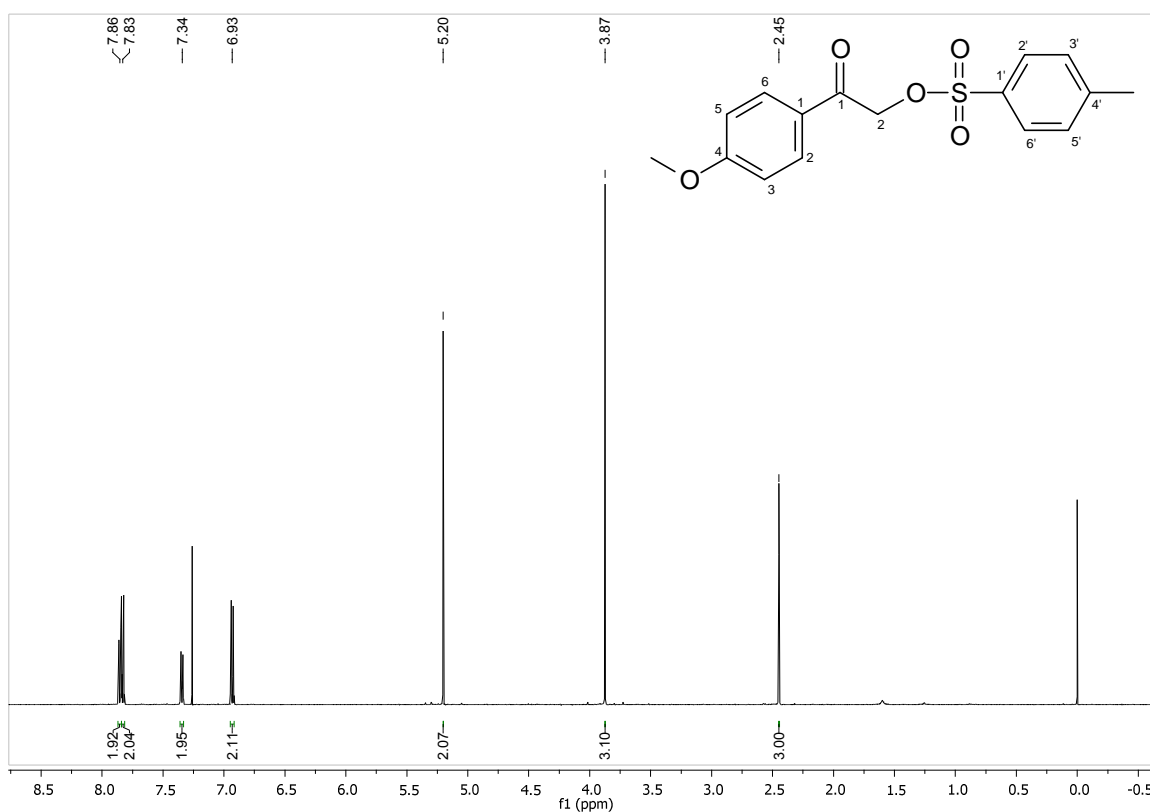
Espectro 58. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, MeOD) do produto amina.



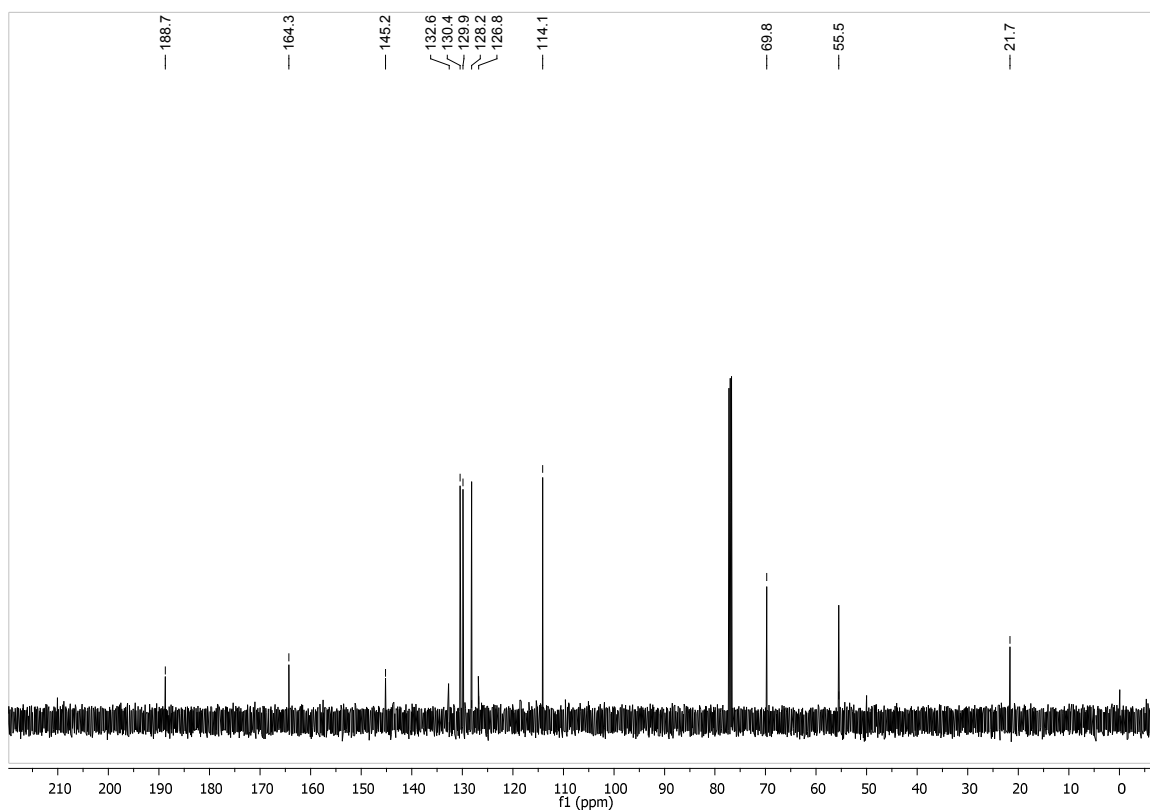
Espectro 59. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + MeOD) do produto (S)-aegelina.



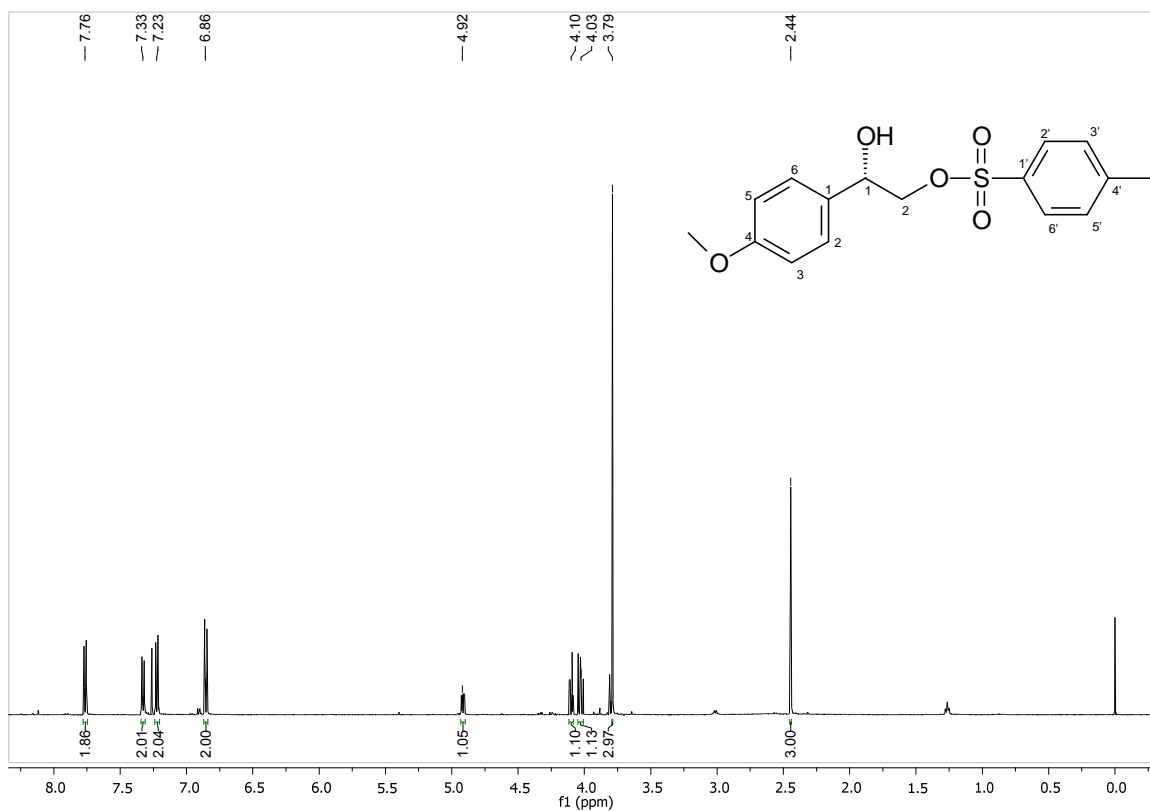
Espectro 60. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + MeOD) do produto (S)-aegelina.



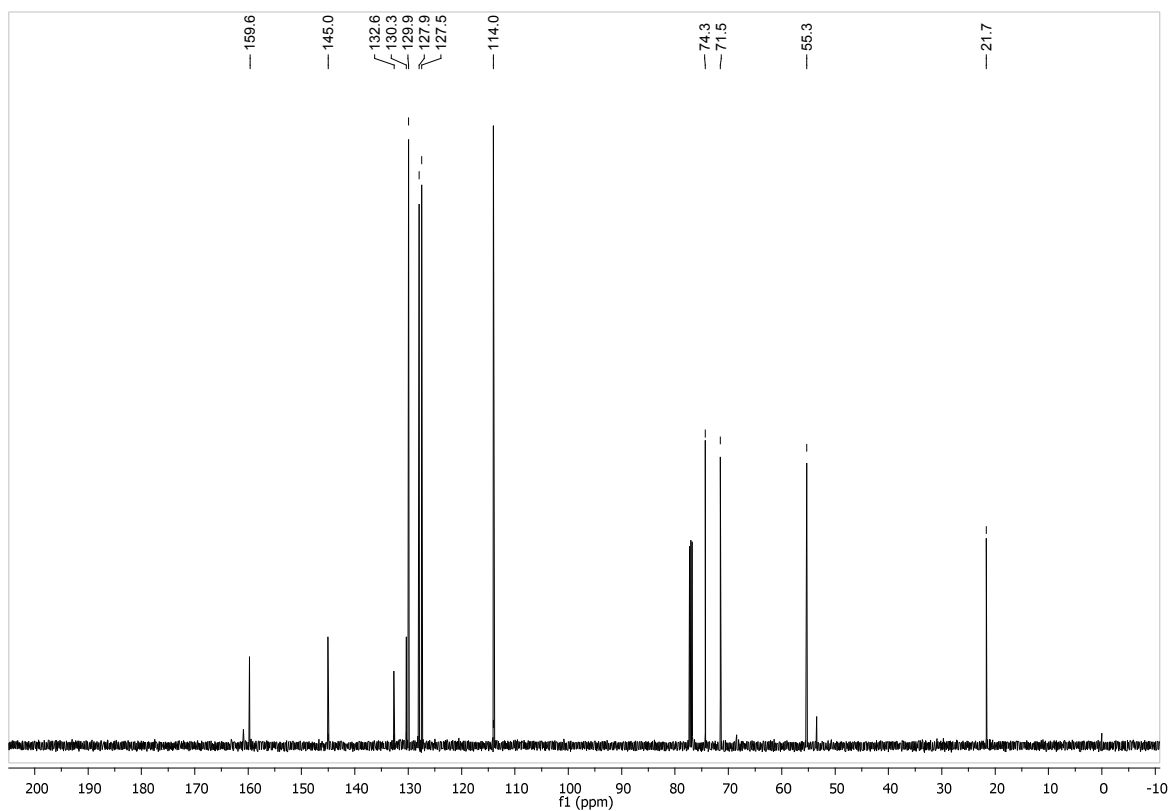
Espectro 61. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) do produto da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.



Espectro 62. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) do produto da α -oxitosilação de 4-metoxiacetofenona.



Espectro 63. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) do produto tosilado da segunda rota.



Espectro 64. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) do produto tosilado da segunda rota.